Département Ressources Biologiques et Environnement – RBE
Délégation Ifremer Océan Indien – DOI
Laboratoire Ressources Halieutiques de Boulogne – RHBL

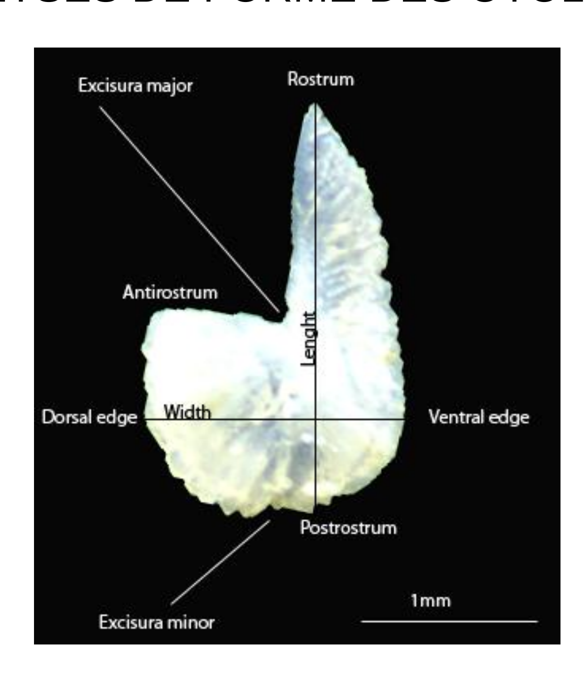
Jérôme BOURJEA
Tiphaine MILLE
Hugues EVANO
Kélig MAHE

Mai 2015 – RST/DOI/2015-04



OTOLITHE –ESPADON

EVALUATION DE LA STRUCTURE DU STOCK D'ESPADON DE L'OCEAN INDIEN A PARTIR DES ANALYSES DE FORME DES OTOLITHES



Rapport Final





PO FEP 2007-2013,
Volet Réunion, Axe 3, Mesure 3.6
Numéro de Convention :
Ref DMSOI : 39703/DMSOI/2013
Ref Ifremer : IFR N° 13/1210968/F

OTOLITHE –ESPADON

Evaluation de la structure du stock d’espadon de l’océan Indien à partir des analyses de forme des otolithes

Rapport Final



Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : RST/DOI/2015-04 **Diffusion** : libre : ☑ restreinte : ☐ interdite : ☐ **Validé par** : David Roos – david.roos@ifremer.fr Pierre Cresson – pierre.cresson@ifremer.fr Magali Duval – magali.duval@ifremer.fr	**date de publication :** 30/05/2015 **nombre de pages :** 29 sans les 4 Annexes **bibliographie :** oui **illustrations :** oui **langue du rapport :** Français

Titre de l'article Evaluation de la structure du stock d'espadon de l'océan Indien à partir des analyses de forme des otolithes

Contrat n° IFR N° 13/1210968/F Rapport intermédiaire ☐ Rapport définitif ☑

Auteurs principaux :	**Organisme / Direction / Service, laboratoire**
Jérôme BOURJEA	Ifremer RBE/DOI
Tiphaine MILLE	Ifremer RBE/RHBL
Hugues EVANO	Ifremer RBE/DOI
Kélig MAHE	Ifremer RBE/RHBL
Collaborateurs :	
Chris HEINEKEN	CAP FISH, Afrique du Sud

Cadre de la recherche : PO FEP 2007-2013, Axe 3, Mesure 3.6, Volet Réunion,
Numéro de Convention : Ref DMSOI : 39703/DMSOI/2013 ; Ref Ifremer : IFR N° 13/1210968/F

Destinataires :
DMSOI, Service instructeur des fonds FEP/Réunion
COREPAM La Réunion

Résumé : L'espadon (*Xiphias gladius*) de l'océan Indien est actuellement une ressource évaluée comme étant pleinement exploitée à l'échelle de cet océan, avec un risque de surexploitation dans le sud-ouest de l'océan Indien. Une précédente étude a permis de démontrer que les espadons de l'océan Indien ne formaient qu'une seule et même population génétique (conclusion du projet IOSSS – ESPADON). L'objectif de ce projet a été d'explorer la forme de 395 otolithes d'espadons collectés dans sept zones différentes de l'océan Indien pour identifier s'ils provenaient de stocks différents ou non.

Cette étude a permis de tirer 5 conclusions principales :

- les otolithes gauche et droit de l'espadon sont significativement similaires.
- il n'y a pas d'effet de la taille des espadons matures sur la forme de leurs otolithes
- il n'y a pas de dimorphisme sexuel sur la forme des otolithes d'espadons matures.
- il n'y a pas d'effet ou de biais de l'année d'échantillonnage sur la forme de l'otolithe d'espadon.
- il n'existe pas une structure liée à l'origine géographique des espadons dans l'océan Indien

Cette étude réalisée à partir d'une analyse de formes des otolithes confirme donc les résultats préalablement mis en évidence par l'approche génétique, à savoir que les espadons de l'océan Indien forment un seul et unique stock. Ces résultats ont permis à la Commission des Thons de l'Océan Indien (CTOI) de considérer en 2014 et jusqu'à preuve du contraire, qu'il n'existait qu'un seul stock d'espadons dans l'océan Indien, une décision qui écarte pour un certain nombre d'années, la mise en place de mesures de gestion concrètes (eg TAQ) pour cette espèce dans le sud-ouest de l'océan Indien, mesures qui auraient pu pénaliser la flottille palangrière réunionnaise.

Mots-clés : Espadon, *Xiphias gladius*, Otolithe, descripteur de Fourier, stock, océan Indien, Forme

Sommaire

1 Introduction

1.1 Contexte

L'espadon (*Xiphias gladius*) fait partie des espèces de poissons à rostre les plus exploitées par les pêcheries pélagiques. En océan Indien, l'espadon est une ressource marine à haute valeur commerciale aussi bien pour la consommation locale que pour l'export vers les pays d'Europe et d'Asie. En 2007, plus de 30 000 tonnes d'espadons ont été pêchées dans cet océan, essentiellement à la palangre dérivante (95%) et au filet dérivant (5% ; IOTC 2008). Il a été estimé pour l'année 2007 qu'environ 27 000 tonnes d'espadons avaient été pêchées dans l'océan Atlantique, 15 000 tonnes en mer Méditerranée et quelques 26 000 tonnes dans l'océan Pacifique (Lecouls *et al.* 2010). Au total, ce sont donc presque 100 000 tonnes d'espadons qui ont été capturées dans le monde en 2007.

Même si le tonnage de cette espèce est insignifiant au regard du volume (> 300 000 tonnes en 2012 ; données CTOI) et du poids économique des captures des thons tropicaux dans ces mêmes océans, cette ressource n'en reste pas moins fragile et soumise à une pression toujours plus forte de la pêche artisanale, semi industrielle et industrielle. Dans le cas de l'espadon de l'océan Indien, le Groupe de Travail « Poissons Porte-Epée » (GTPE) de la Commission des Thons de l'Océan Indien (CTOI) a conclu en 2008 que le niveau de pêche en 2007 (environ 30 000 tonnes) était proche du niveau maximum soutenable. Le GTPE a également conclu les années suivantes, qu'il y avait un risque de surexploitation localisé important au niveau du sud-ouest de l'océan Indien et qu'il était indispensable de déterminer si cette région représentait un stock spécifique indépendant du reste de l'océan Indien (IOTC 2008). Cependant, le GTPE également conclu que (1) la qualité/quantité des données de pêche fournies, (2) le manque d'informations sur la biologie de l'espèce et (3) la méconnaissance de la structure du stock à l'échelle de l'océan Indien ne permettent pas d'obtenir des évaluations de stock fiables pour cette espèce. Le GTPE a ainsi clairement recommandé aux scientifiques de contribuer à une meilleure compréhension de la dynamique reproductive et de la structure du stock de ce grand pélagique dans l'océan Indien.

C'est dans ce contexte que le Projet IOSSS–ESPADON (Structure du stock d'espadon de l'océan Indien ; Mesure n°3.6 du volet Réunion du P.P FEP 2007-2013 Convention n° DAE4/20090164) a été porté par la Délégation Ifremer de l'Océan Indien – DOI (2008-2012). L'objectif principal du projet était d'étudier la structure du stock d'espadon dans l'ensemble de l'océan Indien et les secteurs proches de ses océans voisins (sud-est Atlantique et sud-ouest Pacifique) en se basant sur une approche génétique. L'objectif final était de fournir des éléments supplémentaires aux commissions de gestion pour améliorer la qualité des évaluations de stock de cette espèce, et ainsi contribuer à son exploitation durable.

La principale conclusion de ce projet a été (Bourjea *et al.* 2012 ; Muths *et al.* 2013), sur la base des marqueurs génétiques utilisés (ADN mitochondrial et microsatellites), qu'aucune structure n'a pu être mise en évidence à l'échelle de l'océan Indien. Ce résultat semblerait confirmer l'hypothèse de l'appartenance des espadons de l'océan Indien à une seule et même population. En ce sens, un des résultats important en terme de gestion est que le sud-ouest de l'océan Indien n'abrite pas de sous population génétique d'espadons, le stock de l'océan Indien est clairement isolé de celui de l'Atlantique, avec une zone de brassage dont la structure reste à préciser au niveau de

l'Afrique du sud. Cependant, il est important de noter que ces conclusions ne sont issues que d'une seule et même approche, la génétique des populations. Dans le cadre de gestion de stocks exploités, il est primordial de valider ce type de conclusion par des approches complémentaires (marquage, otolithométrie…) qui permettent de confirmer ou infirmer les résultats obtenus par une seule approche.

Ainsi, dans le cadre du projet IOSSS–ESPADON, des otolithes d'espadon avaient également été collectés tout au long de la phase d'échantillonnage du projet avec pour objectif de mettre en place une étude complémentaire, le projet OTOLITHE–ESPADON, exploitant la forme des otolithes (l'otolithométrie) pour conforter la compréhension de la structure du stock de cette espèce dans l'océan Indien.

1.2 Concept et objectif du projet

Les otolithes sont généralement utilisés chez les téléostéens (poissons osseux) pour estimer les croissances et l'âge des individus. Afin de mieux comprendre la structure du stock d'espadon et sa dynamique spatiale à l'échelle de l'océan Indien, l'otolithométrie (i.e. étude de la forme des otolithes) peut être une approche complémentaire à celle de la génétique des populations. En effet, les otolithes sont des concrétions calcaires présentes dans l'oreille interne des téléostéens intervenant dans le système auditif et l'équilibration de l'animal. Ils sont métaboliquement inertes et possèdent une croissance accrétionnelle (Campana & Neilson 1985). Cette caractéristique leur confère le statut de marqueurs biologiques naturels considérés comme de véritables archives d'informations permettant de reconstruire l'histoire environnementale du poisson.

En plus d'être inter-spécifique, la forme de l'otolithe varie également à l'échelle intra-spécifique. En effet, la forme des otolithes change durant l'ontogénie (Hüssy 2008), mais aussi sous des contraintes environnementales tels que la profondeur (Gauldie & Crampton 2002), la température de l'eau (Cardinale et al. 2004), le type de substrat (Mérigot et al. 2007). De nombreuses études se sont basées sur la forme des otolithes entiers pour différencier les populations de poissons (De Vries et al. 2002 ; Stransky 2005 ; Begg & Brown, 2006 ; Galey et al. 2006 ; Pettursdottir et al. 2006 ; Kristoffersen & Magoulas 2008 ; Stransky et al. 2008 ; Agüera & Brophy 2011 ; Benzinou et al. 2013). Ces travaux ont utilisé essentiellement les transformées de Fourier pour analyser la forme des otolithes.

Le présent projet ne concerne donc que le volet otolithométrie. L'objectif a été d'observer s'il existe des différences morphologiques des otolithes d'espadons, différences qui traduiraient l'existence de différentes populations d'espadons dans l'océan Indien et le sud-est de l'océan Atlantique. Les résultats permettront donc de confirmer ou réfuter les conclusions issues des analyses génétiques, à savoir : existe-t-il un ou plusieurs stocks d'espadon dans l'océan Indien ?

2 Matériel, méthodes et principaux résultats

2.1 Echantillonnage

Les échantillons exploités dans le cadre de cette présente étude proviennent de 2 origines :

1. Dans le cadre du projet IOSSS–ESPADON, 698 saccules contenant les sagittae (la paire d'otolithes la plus volumineuse des 3 présentes dans l'oreille interne) d'espadons ont été collectées dans le sud-ouest de l'océan Indien ainsi que dans le nord de l'océan Indien. Leurs extractions ont été réalisées à partir d'une méthode développée pour l'espadon (Evano et al. 2014). La petite taille (2 à 5 mm) et la fragilité des otolithes ont impliqué une dissection minutieuse sous loupe binoculaire. Au total, 303 paires d'otolithes (gauche et droit) et 138 otolithes uniques ont été extraits avec succès des échantillons collectés par le projet IOSSS–ESPADON.

2. Un échantillonnage dédié pour l'Afrique du sud et réalisé par Cap Fish. En effet, sur la base des résultats du projet IOSSS – ESPADON, des différences dans la structure génétique de cette espèce sont apparues dans cette région, impliquant que cette zone devienne prioritaire pour ce projet. Cap Fish est une entreprise privée qui gère le réseau d'observateurs de l'Afrique du Sud. Ses observateurs sont en activité sur toutes les flottilles semi-industrielles ou industrielles évoluant dans la Zone Economique Exclusive (ZEE) de l'Afrique du Sud. Son rôle dans ce projet a été d'assurer la collecte d'otolithes d'espadons via leur réseau d'observateurs embarqués sur les palangriers sud-africains ciblant les espadons et les palangriers taiwanais ciblant les thons. L'échantillonnage ciblait entre 30 et 50 espadons capturés dans la ZEE de l'Afrique du Sud. Cependant, du fait de la complexité de la récupération de têtes d'espadons (grosse taille), et de l'extraction des otolithes, seules 20 paires d'otolithes ont pu être prélevées dans de bonnes conditions et exploitées pour les analyses.

Le tableau 1 présente le bilan global des échantillons analysés dans le cadre de ce projet ; la figure 1 présente leur distribution spatiale. Ainsi, les espadons ont été péchés entre 2009 et 2014 entre l'Afrique du sud et la Thaïlande à partir de personnels embarqués (observateurs ou scientifiques) ou directement au débarquement des poissons. Les données biologiques (taille, sexe et maturité sexuelle) ont été, dans la mesure du possible, systématiquement collectées. Le sexe et la maturité sexuelle ont été déterminés par l'analyse macroscopique des gonades. La taille (LJF, longueur entre la mâchoire inférieure et la fourche ; Figure 2) du poisson a été mesurée à l'aide d'un mètre ruban. La forme des otolithes pouvant changer avec la maturité sexuelle des individus (Cardinale et al. 2004), seuls les otolithes sagittaux des individus matures (395 individus, LJF=155.0 ± 38.6 cm) ont été analysés dans cette étude.

Tableau 1 : Répartition des otolithes d'espadons collectés dans l'océan Indien. LJF : Lower jaw Fork lenght ; autre = indéterminé ; AFS = Afrique du sud

Site	LJF (cm)	Sexe			année				Total
		Male	Femelle	autre	2009	2010	2013	2014	
La Réunion	143.0±23.0	38	59	10	61	46			**107**
Mozambique	135.1±38.6	11	10	13		34			**34**
Rodrigues	165.2±29.8	29	54	0	39	44			**83**
AFS	185.9±36.9			20			5	15	**20**
South Malagasy	150.4±34.2	21	48	2	62	9			**71**
Sri Lanka	167.3±57.5	8	20	48	23	53			**76**
Thaïlande	98.2±20.3		3	1		4			**4**
Total	**155.0**±38.6	**107**	**194**	**94**	**185**	**190**	**5**	**15**	**395**

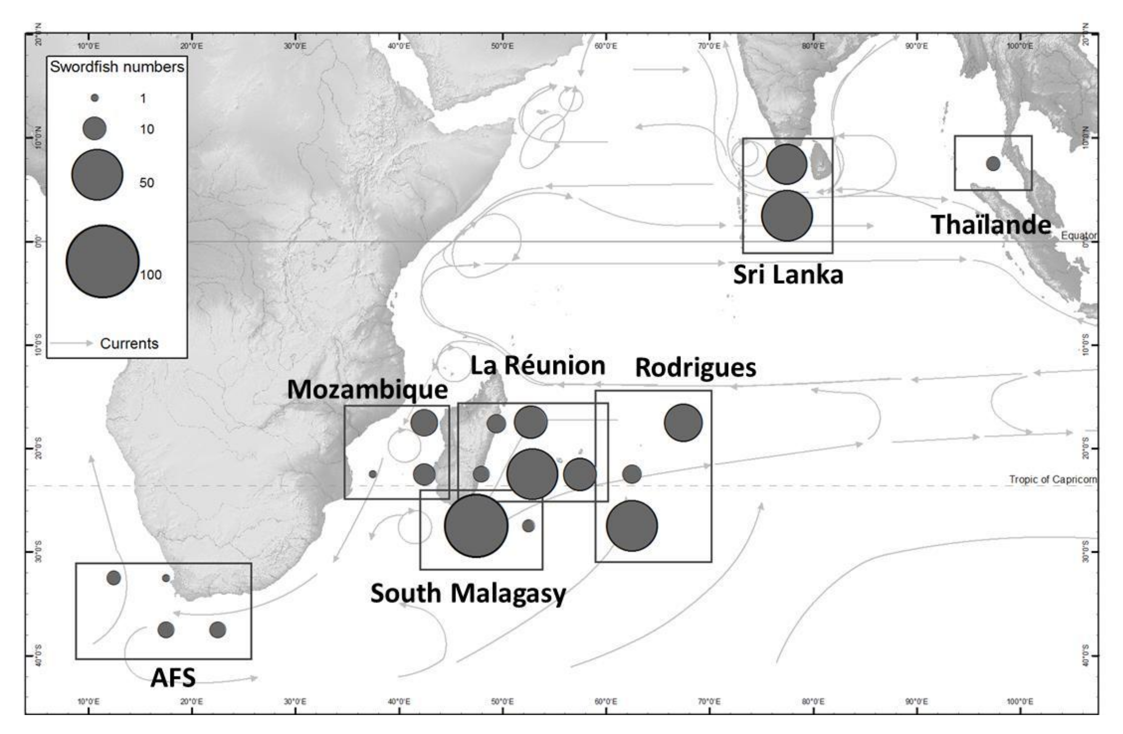


Figure 1 : Distribution spatiale des otolithes collectés dans l'océan Indien. Les rectangles indiquent les regroupements d'échantillons pour former les zones comparées lors des analyses. Les flèches indiquent les principaux courants dans la zone (d'après Schott *et al.* 2009).



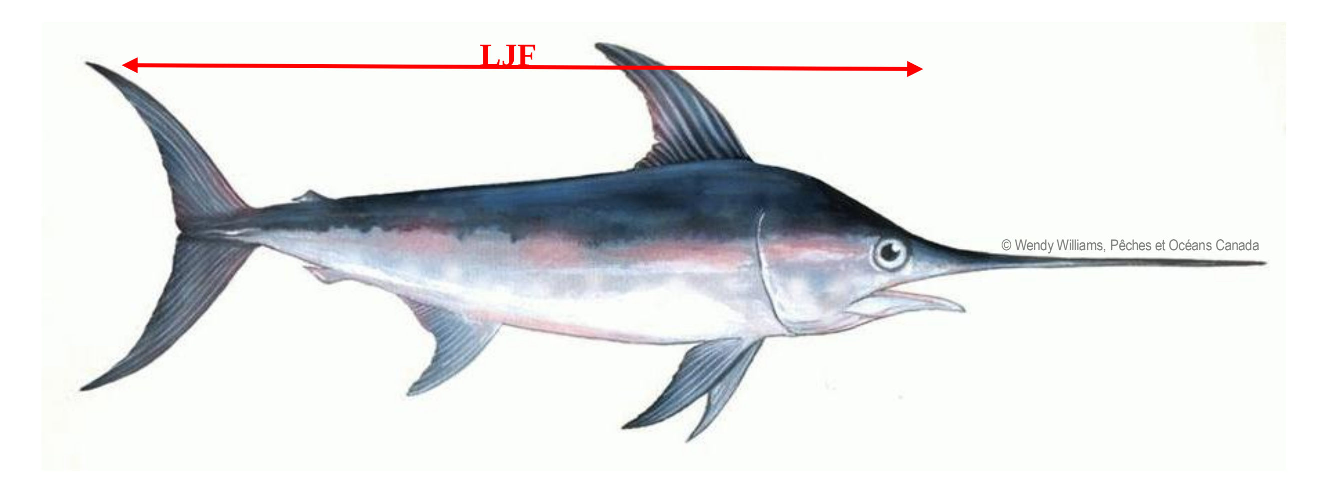


Figure 2 : La taille mesurée chez l'espadon (LJF, Lower Jaw Fork - longueur entre la mâchoire inférieure et la fourche)

2.2 Analyses de forme

L'otolithe d'espadon présente la caractéristique d'avoir une zone dorsale très large, située entre l'*excisura major* et l'*excisura minor* et très distincte de l'*antirostrum* (Figure 3). Une image calibrée des otolithes droits et gauches de chaque individu a été réalisée en plaçant le *sulcus acusticus* vers le haut sous lumière réfléchie, à partir d'un scanner à haute résolution (de type Epson V750 avec une résolution de 3200 dpi) dédié et financé par le projet. Les analyses d'images ont été réalisées à l'aide du logiciel TNPC (Logiciel d'analyse d'image dédié aux pièces calcifiées, version 7, www.tnpc.fr), également acquis dans le cadre de ce projet.

La formation des agents de la DOI à l'utilisation de ce matériel et du logiciel TNPC a été assurée par K. Mahé lors d'une mission dédiée en décembre 2013 (Annexe 4).

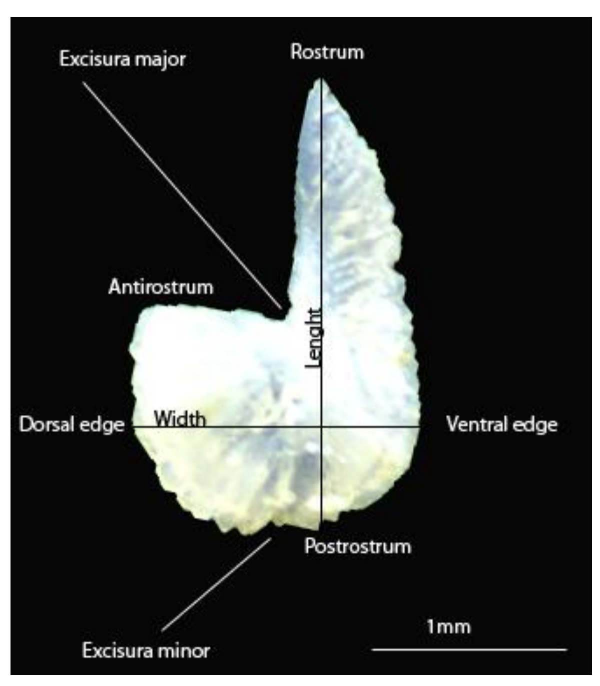


Figure 3 : Caractéristiques de la forme de l'otolithe d'espadon *Xiphias gladius.*

La forme de l'otolithe a été décrite par l'utilisation de la méthode des ellipses de Fourier (EFA ; Lestrel 2008). Cette méthode consiste en une reconstruction du contour de n'importe quel objet fermé en deux dimensions à l'aide d'ellipses (Figure 3). Chaque ellipse est appelé harmonique et est décrite par une somme de fonctions trigonométriques de sinus et cosinus et dont les paramètres associés sont les coefficients ou descripteurs de Fourier (EFDs). Chaque harmonique est composée de 4 coefficients (A, B, C et D). La première harmonique est une simple ellipse, mais augmenter le nombre d'harmoniques accroit la complexité de la forme et donc la précision de sa description. Dans notre cas, ce sont ces EFDs qui sont utilisés comme variables descriptives de la forme de l'otolithe (Figure 4).

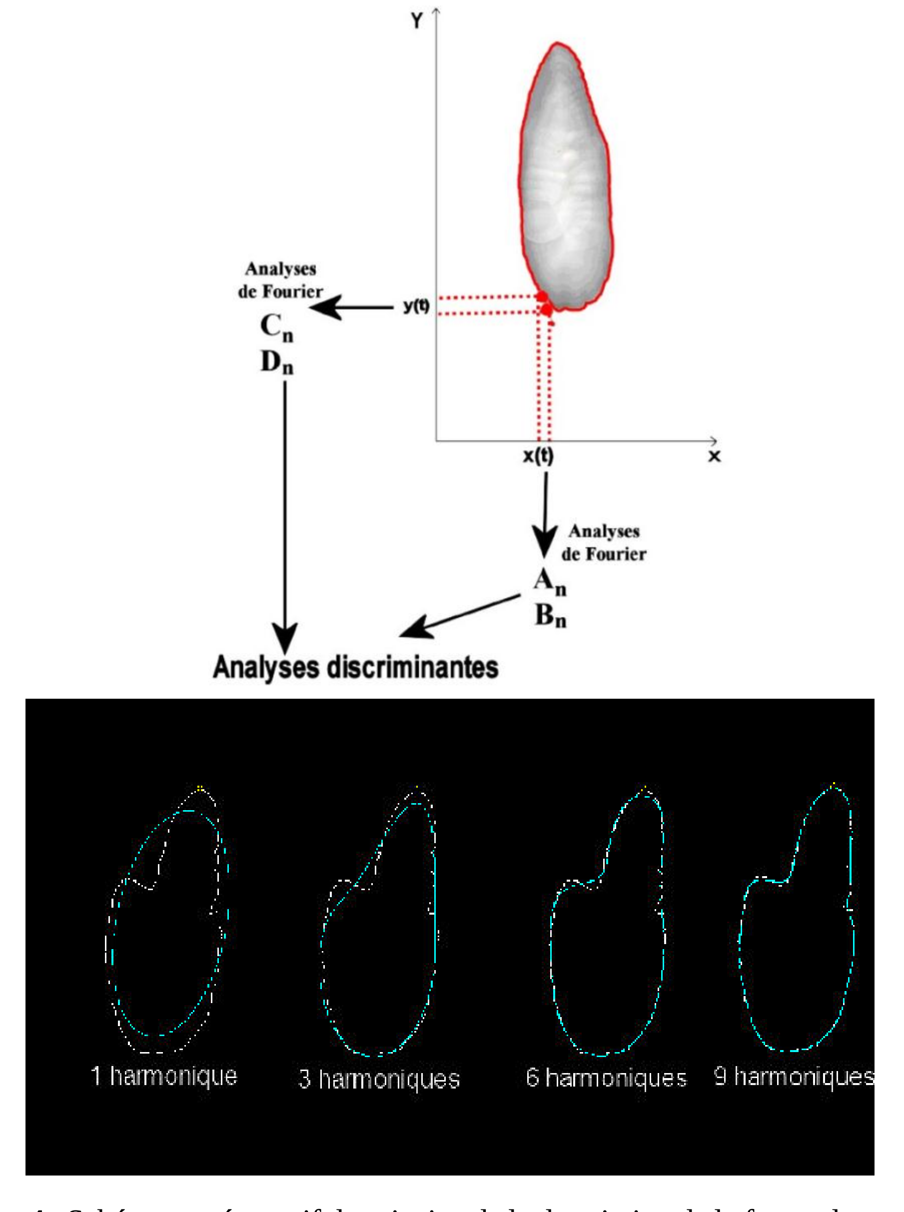


Figure 4 : Schéma représentatif du principe de la description de la forme des otolithes par l'analyse des ellipses de Fourier.

Les paramètres morphométriques (longueur et largeur) de l'otolithe ont aussi été extraits automatiquement par l'analyse numérique à partir du logiciel TNPC de façon à pouvoir coupler ces données avec les ellipses de Fourier.

Dans le cas de ce projet, il a donc été réalisé :

- l'extraction des paramètres morphométriques (longueur et largeur) de chaque otolithe et pour chaque côté.
- l'extraction des EFDs des 99 premières harmoniques (Hi). Ces derniers ont été normalisés par rapport à la première harmonique (qui est donc nécessairement supprimée préalablement aux analyses) afin que les formes analysées ne soient pas biaisées par la taille de l'otolithe, son orientation lors de la numérisation et par le point de départ du calcul de chaque harmonique (Kuhl & Giardina 1982). Seul D1 est conservé pour décrire la première harmonique. Le calcul de la puissance de Fourier (PF) permet ensuite de déterminer le nombre d'harmoniques nécessaires à la reconstruction de la forme de l'otolithe par la formule suivante :

$$F(n_k) = \sum_{HI=1}^{n_k} \frac{A_{\mathrm{HI}}^2 + B_{\mathrm{HI}}^2 + C_{\mathrm{HI}}^2 + D_{\mathrm{HI}}^2}{2}$$

où

k est la valeur cumulée pour la k^{eme} harmonique
A_{HI}, B_{HI}, C_{HI} and D_{HI} sont la $HI^{ème}$ Harmonique
n_k est le nombre total d'Harmoniques.

L'objectif étant que PF(nk) calcule le nombre d'harmoniques et donc d'EFDs nécessaire pour expliquer 99.99% de la variance du contour observée, c'est-à-dire que la forme du contour de l'otolithe soit reconstruite à 99.99% (Lestrel 2008). De plus, afin de nous assurer de la bonne description de chacune des formes d'otolithes présentes dans l'échantillon, la PF a été calculée pour chacun des otolithes, et le nombre maximum d'harmoniques a été conservé pour décrire l'ensemble de tous les otolithes de l'étude. Cette approche permet donc l'acquisition d'une matrice de données (où les individus sont en ligne et les EFDs en colonne). De plus, une analyse en composante principale (PCA/ACP) a été réalisée sur les descripteurs des ellipses de Fourier (EFDs), afin de diminuer le nombre de variables pour décrire le contour des otolithes et de retirer la colinéarité entre les EFDs (Rohlf & Archie 1984). Seules les Composantes Principales significatives ont été retenues. Pour identifier ces composantes principales significatives, la méthode dite « broken-stick » a été appliquée (Legendre & Legendre 2012).

Ainsi, chaque individu est décrit par ses coordonnées dans ce nouvel espace d'inertie formant ainsi une nouvelle matrice sur laquelle des analyses discriminantes multivariées ont été réalisées pour expliquer et prédire l'appartenance à des groupes prédéfinis (zones géographiques). La qualité de la discrimination et le taux de reclassement des individus dans les groupes prédéfinis permettent de distinguer ou non différentes populations.

L'ensemble de ces analyses numériques a été réalisée à l'aide du logiciel R (R Core Team 2014) en utilisant les packages Vegan' (Oksanen et al. 2013), 'MASS' (Venables & Ripley 2002), 'CAR' (Fox & Weisberg 2011), 'FactoMineR' (Lê et al. 2008), 'HH' (Heiberger & Holland 2004) and 'Ellipse' (Murdoch & Chow 1996).

Les résultats ont montré que sur les 99 harmoniques extraites pour décrire la forme de l'otolithe, les 43 premières permettaient d'expliquer 99.99% de ses variations (PF = 43). Ces 43 harmoniques sont donc décrites par 172 EFDs dont 169, suite à la normalisation, ont été utilisées par la suite dans les analyses statistiques.

2.3 Analyses statistiques

2.3.1 Asymétrie de forme des otolithes

Au vue de la fragilité des otolithes d'espadons et donc de la difficulté d'extraction des paires, la question qui se posait dans un premier temps était de savoir s'il existait une différence de forme entre les otolithes droit et gauche d'un même individu, et donc s'il était possible d'inclure indifféremment des otolithes droits et gauches dans l'analyse de forme.

Pour ce faire, une image miroir a été réalisée sur l'otolithe gauche afin de pouvoir comparer les deux formes (droit et gauche), puis une analyse de redondance (RDA) a été réalisée (où la matrice réponse composée des coordonnées des individus sur les composantes principales choisies était contrainte par la variable « côté de l'otolithe »), associée à des tests de permutation, afin de tester la significativité de l'effet sur 91 paires d'otolithes. De plus, afin de visualiser l'effet droite/gauche, une forme moyenne d'otolithe a été reconstituée pour chacun des côtés (Figure 5).

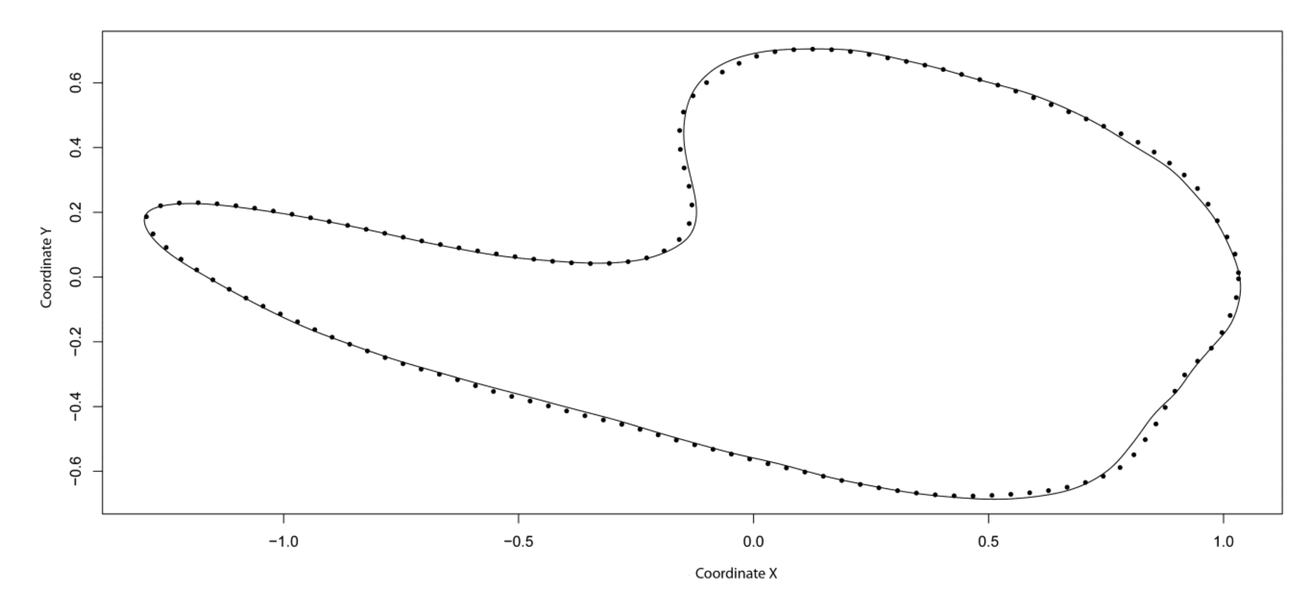


Figure 5 : Formes moyennes de l'otolithe droit (ligne pleine) et de l'image miroir de l'otolithe gauche (en pointillé) de l'espadon de l'océan Indien reconstruites en utilisant les 43 Harmoniques de Fourier de 91 paires d'otolithes.

Les résultats de cette analyse montrent qu'il n'y a pas de différence significative de forme entre les otolithes droits et gauches (Figure 5). Ce résultat très important a permis l'élargissement de notre échantillonnage c'est à dire d'utiliser conjointement 304 individus à partir des otolithes droits et 91 autres individus avec une image miroir de l'otolithe gauche en l'absence d'otolithes droits intacts, soit un total de 395 individus pour réaliser les analyses discriminantes.

2.3.2 Evaluation des effets potentiels des variables explicatives

Une nouvelle analyse de redondance (RDA) associée à des tests de permutation a été réalisée (Legendre et Legendre 2012) pour évaluer dans quelle mesure les variables explicatives « taille des individus », « sexe », « année d'échantillonnage » et « zone géographique » ont un effet sur les variations de forme des otolithes analysés. Elle a permis de mettre en évidence que les premières composantes principales décrivaient respectivement 35.9% et 25.2% de la variabilité de la forme des otolithes. La méthode dite « broken-stick » a permis ensuite de déterminer que seules les 7 premières composantes principales avaient une contribution significative sur la description de la forme de l'otolithe.

Les RDA associées aux tests de permutation ont ensuite permis de conclure que :

1- Il n'y a pas d'effet de la taille (LJF) de l'espadon sur la forme de l'otolithe (p=0.464)

2- Il n'y a pas d'effet du sexe de l'espadon sur la forme de l'otolithe (p=0.121)

3- Il n'y a pas d'effet de l'année d'échantillonnage sur la forme de l'otolithe (p=0.755)

4- Il y a un effet de la zone de prélèvement de l'espadon sur la forme de l'otolithe (p=0.002)

Comme l'effet « taille du poisson » n'est pas significatif, les données morphométriques de l'otolithe ont été ensuite utilisées pour regarder cet effet. La non significativité (P=0.315, Figure 6) de la relation entre la taille du poisson et le ratio Longueur otolithe/Largeur otolithe montrent que la taille de l'otolithe et le rapport longueur/largeur de l'otolithe ne sont pas dépendants de la taille du poisson, ce qui corrobore les analyses précédentes.

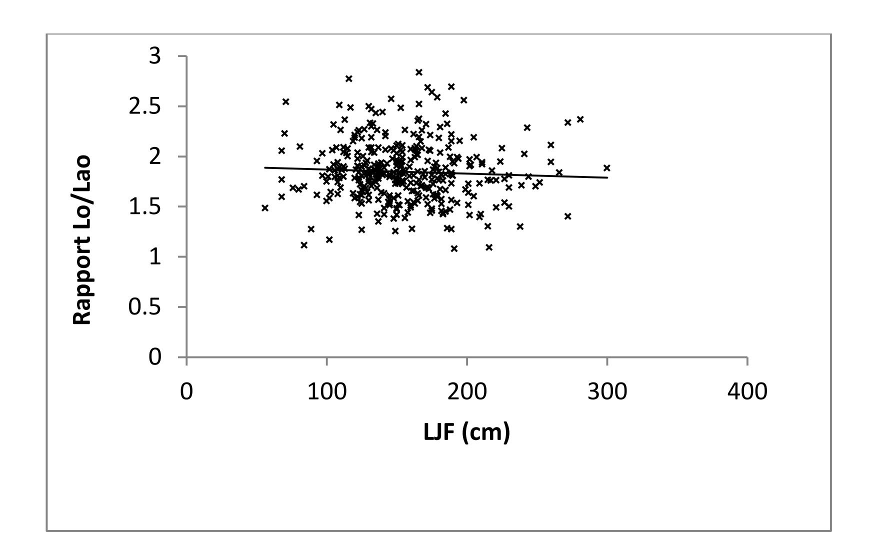


Figure 6 : Relation entre la taille du poisson (LJF) et le ratio Longueur otolithe (Lo)/Largeur otolithe (Lao) de 395 otolithes d'espadons de l'océan Indien.

2.3.3 Evaluation de l'effet « zone géographique» de prélèvement

2.3.3.1 Analyses sous contraintes

Afin de comprendre l'effet « zone géographique » sur la forme des otolithes et de différencier les otolithes d'espadons provenant des 7 différentes zones géographiques d'échantillonnage (Tableau 1), une analyse linéaire discriminante (LDA) associée à un test de prédiction de Jacknifed (Rencher & Christensen 2012) a été appliquée à la matrice de variation de forme des otolithes utilisée précédemment. Ces analyses font partie des méthodes dites « sous-contraintes » à base de calculs matriciels pour lesquels l'objectif est de trouver les combinaisons linéaires des descripteurs qui en maximisent la variance inter-groupe et minimisent la variance intra-groupe (Gonzalez-Salas & Lenfant 2007). Dans notre étude, chaque otolithe est caractérisé par les coefficients des 7 premières composantes principales (variables quantitatives) associés à un second jeu de variables (représentant la contrainte) qui indique la zone géographique de capture du poisson. La qualité de la discrimination a été estimée par le lambda de Wilks. Il s'agit d'un scalaire variant entre 0 et 1. Plus cette valeur est proche de 0, meilleure est la discrimination (Everitt & Dunn 1991 ; Polit 1996). Le taux de reclassement des individus dans les groupes prédéfinis a été déterminé par le test de validation croisée de Jackknife. Cette méthode non paramétrique permet d'approximer la distribution échantillonnée d'une statistique, c'est à dire d'estimer le pourcentage de reclassification correcte d'une (ou plusieurs) observation(s) dans son (leur) groupe(s) d'origine (Efron 1982).

On constate que le pourcentage de succès global de cette classification est relativement bas (30% ; Tableau 2). Les résultats indiquent qu'il existe des différences significatives entre groupes d'espadons échantillonnés dans différentes zones de l'océan Indien (Wilks'λ = 0.017; F=1.255; p=0.001). Par contre, les mauvaises reclassifications apparaissent de manière aléatoire, avec des individus mal reclassifiés qui apparaissent aussi bien dans des zones géographiques proches que plus éloignées (Tableau 2). Il n'y

a donc pas de possibilité de classer des grandes zones géographiques présentant des formes différentes.

Tableau 2 : Matrice de classification croisée de Jackknife pour les 395 otolithes d'espadons entre les zones géographiques d'origine. En gris les bonnes reclassifications. Succès de classification global : 30%

Zones géographiques	South Africa	South Malagasy	Mozambique	La Réunion	Rodrigues	Sri Lanka	Thailand	%
South Africa AFS	4	3	2	1	9	1	0	20
South Malagasy	5	19	4	20	9	13	1	27
Mozambique	3	2	5	11	9	4	0	15
La Réunion	5	17	16	41	14	13	1	38
Rodrigues	2	12	8	23	28	10	0	34
Sri Lanka	2	12	14	13	12	21	2	28
Thaïlande	0	2	1	0	1	0	0	0

2.3.3.2 Classification hiérarchique

Enfin, une analyse hiérarchique par clusters (algorithme hiérarchique de Ward basé sur le carré des distances Euclidiennes) a été réalisée pour regrouper les individus ayant des formes d'otolithes proches. Cette approche permet de regarder la distribution des individus ayant des formes d'otolithes proches sans aucune contrainte préalable (Tableau 3). Les résultats indiquent que les 395 individus forment 3 clusters distincts (Figure 7), mais que la distribution de ces clusters au sein des zones géographiques échantillonnées se fait de manière homogène (Tableau 3). Une proportion faible d'individus (entre 9 et 25 %) est classée au sein du cluster 1 quel que soit le site, alors que la majorité des individus appartient au cluster 3 (50 à 65 %). Il n'y a donc pas de liens entre les 3 clusters identifiés et les zones géographiques échantillonnées.

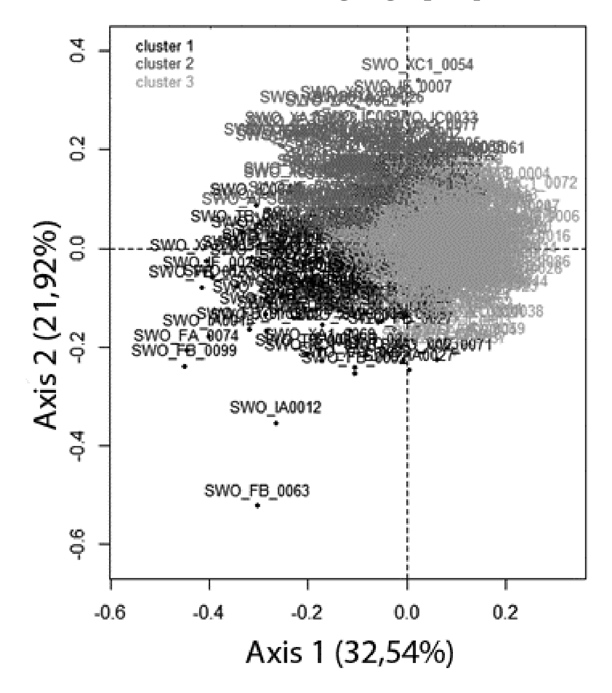


Figure 7 : Représentation graphique de la classification hiérarchique avec identification de 3 clusters.

Tableau 3 : Matrice de classification hiérarchique avec identification de 3 clusters (nombre (a) et % (b)) à partir des 395 otolithes d'espadons de l'océan Indien.

(a)

Zones géographiques	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Total
South Africa -AFS	2	5	13	20
South Malagasy	11	20	40	71
Mozambique	3	13	18	34
La Réunion	20	23	64	107
Rodrigues	12	23	48	83
Sri Lanka	17	17	42	76
Thaïlande	1	1	2	4
Total	66	102	227	395

(b)

Zones géographiques	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
South Africa - AFS	10%	25%	65%
South Malagasy	15%	28%	56%
Mozambique	9%	38%	53%
La Réunion	19%	21%	60%
Rodrigues	14%	28%	58%
Sri Lanka	22%	22%	55%
Thaïlande	25%	25%	50%
Total	17%	26%	57%

Sur la base des analyses de forme de l'otolithe des espadons échantillonnés, il existe donc bien une structuration des individus, mais elle n'est pas liée à l'origine géographique des espadons. Cette structure est probablement la conséquence de variations individuelles liées à la variabilité de l'environnement sur les différents habitats exploités au cours de la vie de l'espadon.

3 Synthèse des résultats et recommandations

3.1 Principales conclusions

L'utilisation de la forme des otolithes est une approche très intéressante à explorer dans le cadre de l'identification de la structure des populations de poissons marins en lien avec les variabilités environnementales et la structure génétique (Campana & Casselman 1993; Cadrin & Friedland 1999; Torres et al. 2000; Cardinale et al. 2004; Vignon & Morat 2010). La méthode des ellipses de Fourier est l'approche la plus utilisée et la plus robuste pour explorer les variations de forme de l'otolithe (Agüera & Brophy 2011; Capoccioni et al. 2011; Fergusson et al. 2011; Legua et al. 2013).

Même si cette approche a fourni des indications importantes sur la structure des populations de poissons démersaux comme le rouget barbet de roche (*Mullus surmuletus*) des eaux du nord de l'Europe (Benzinou et al. 2013), elle n'avait jamais été explorée dans le cas des grands pélagiques tropicaux. Cette étude est donc la première du genre qui exploite la forme de l'otolithe pour mieux comprendre la structure du stock de l'espadon de l'océan Indien. Plusieurs conclusions sont ressorties de cette étude.

1. **La première est que les otolithes gauche et droit de l'espadon présentent des formes similaires**. Il n'existe pas de différences significatives entre les 2 otolithes d'un même individu, impliquant qu'ils peuvent, tous les deux, être utilisés pour les analyses de forme. On retrouve ce constat sur une autre espèce de grand pélagique tempéré qui est le thon Rouge (*Thunnus thynnus* ; Megalofonou 2006).

2. **La seconde est qu'il n'y a pas d'effet ontogénétique (taille LJF) sur la forme de l'otolithe d'espadon**. En d'autres termes, bien que l'otolithe grandisse en parallèle de la croissance du poisson, sa forme reste similaire durant toute la vie de l'espadon une fois qu'il est mature. Ce constat n'est pas le même chez d'autres espèces comme le maquereau (*Scomber scombrus*; Castanguay et al. 1991), la morue (*Gadus morhua*; Campana & Casselman 1993, Cardinale et al. 2004, Capoccioni et al. 2011), l'églefin (*Melanogrammus aeglefinus*; Begg et al. 2000 ; Begg & Brown 2000) ou encore la sole commune (*Solea solea*; Merigot et al. 2007) où il a été mis en évidence un effet important de la croissance des individus sur la forme de l'otolithe.

3. **La troisième est qu'il n'y a pas d'effet du sexe sur la forme de l'otolithe d'espadon**. En d'autres termes, l'otolithe des femelles et des mâles d'individus matures présenteront des formes similaires. On retrouve cette conclusion chez d'autres espèces comme le maquereau (*Scomber scombrus*, Castonguay et al. 1991), l'églefin (*Melanogramus aeglefinus*, Begg et al. 2000), la truite (Salvelinus namaycush, Simoneau et al. 2000) ou encore la morue (*Gadus morhua*, Cardinale et al. 2004). Cependant, chez d'autres espèces comme le hareng (*Clupea harengus*, Bird et al. 1986), l'hoplostèthe rouge (*Hoplostethus atlanticus*, Gauldie & Jones 2000) ou le merlan bleu du sud (*Micromesistius australis*, Legua et al. 2013), il a été mis en évidence un dimorphisme de l'otolithe en fonction du sexe des individus.

4. **La quatrième est qu'il n'y a pas d'effet de l'année de l'échantillonnage de l'espadon sur la forme de l'otolithe**. En d'autres termes, il existe une stabilité dans la forme de l'otolithe moyenne des espadons adultes d'une année sur l'autre. Ce même résultat a été démontré chez d'autres espèces comme le

saumon atlantique (*Salmo salar,* Friedland & Reddin 1994) ou encore la morue (*Gadus morhua*, Campana & Casselman 1993).

En conclusion, l'ensemble de ces similitudes permet de s'affranchir de ces facteurs de variabilité potentiels et de comparer la forme des otolithes droits ou gauches issus de poissons de taille ou de sexe différents, et issus de plusieurs campagnes d'échantillonnages étalées sur plusieurs années, de manière à disposer d'un échantillon de taille suffisante.

3.2 Existe-il un effet de la zone d'échantillonnage ?

La question principale à laquelle cette étude visait à répondre était : **existe-t-il un effet de la zone d'échantillonnage sur la forme de l'otolithe ou peut-on distinguer des grandes zones géographiques en fonction de la forme des otolithes**? Un effet zone a été mis en évidence sur la forme moyenne des otolithes. En d'autres termes, lorsque l'on regarde la forme des otolithes en fonction des zones géographiques, on s'aperçoit qu'elle varie. Cependant, en approfondissant l'analyse, on s'aperçoit que cette différence ne provient pas réellement d'un effet zone géographique d'origine de capture de l'individu, car les analyses de classification ne réorganisent pas les individus par zone géographique et/ou par zone géographique proche, mais de manière aléatoire sur toutes les zones géographiques. Cette mauvaise classification des individus par zone géographique peut être le fait de variabilités individuelles ou d'un effet de la migration (Campana & Casselman 1993; Tracey et al. 2006). De la même manière, une analyse des clusters permet de confirmer que 3 groupes d'espadons différents sont présents sur les 7 sites échantillonnés, mais que ces groupes sont composés d'individus provenant de tous les sites échantillonnés sans distinctions. **Ces résultats indiquent qu'il n'existe pas une structure liée à l'origine géographique des espadons dans l'océan Indien**.

L'espadon est connu pour être un grand migrateur avec par exemple des individus recapturés à plus de 6 000 km de leur lieu de marquage (Kadagi et al. 2011 ; Figure 8). La migration de l'espadon est cependant un phénomène complexe et mal connue, avec des individus pouvant migrer sur plus de 3 000 km en 90 jours et d'autres rester dans un rayon de 20 km dans ce même laps de temps (Palko et al. 1981; Sedberry & Loefer 2001). Ce phénomène est encore plus complexe dans le cas de l'océan Indien qui est connu pour regrouper un grand nombre d'écosystèmes marins très différents les uns des autres (Sherman & Hempel 2008) et présenter des caractéristiques océanographiques particulières (Longhurst 1998; Schott et al. 2009). La température et le taux d'oxygène sont les facteurs environnementaux prépondérants, qui sont connus pour le plus influencer les grands pélagiques (Carey 1990; Brill 1994; Prince & Goodyear 2006). Cependant, dans le cas de l'espadon, il a été démontré sa forte tolérance à des variations extrêmes des températures et des taux d'oxygènes sur les mouvements de cette espèce (Dewar et al. 2011), rendant donc difficile d'associer le comportement migratoire à des écosystèmes océaniques.

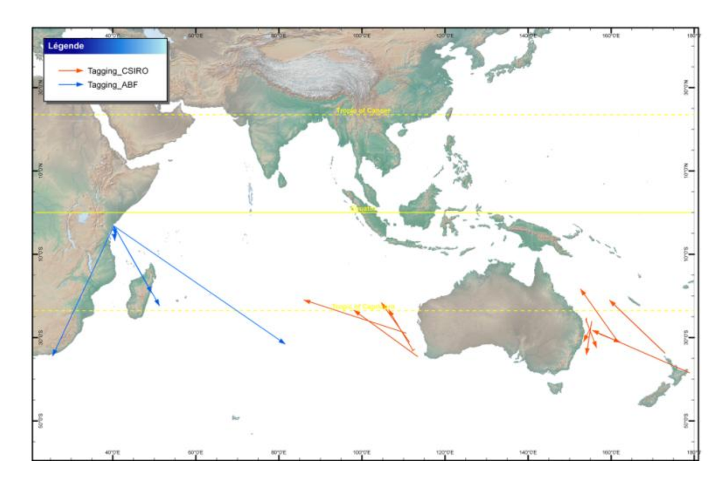


Figure 8 : Bilan de l'ensemble des marquages –recaptures d'espadon disponible pour l'océan Indien (*In* Bourjea *et al.* 2012).

Cette étude exploitant la forme des otolithes en tant qu'outil pouvant aider dans la détermination de la structure du stock d'espadon a permis de confirmer les résultats mis en évidence par la génétique (Bourjea et al. 2012 ; Muths et al. 2013) : les espadons de l'océan Indien forment un seul et unique stock.

3.3 Conclusion

Même si la pression de pêche sur cette espèce a diminué ces dernières années, elle reste encore importante et à la limite de la PME (prise Maximal équilibrée – 31 800t capturées en 2013 ; MSY = 33 200 – 45 600; IOTC-SC17 2014 ; Voir Le Couls et Bourjea, 2010 pour plus de détails sur la PME). Les résultats du projet IOSSS–ESPADON, associés aux résultats de la présente étude ont donc permis au Comité Scientifique de prendre une position officielle sur la présence ou non d'un sous stock d'espadon dans le sud-ouest de l'océan Indien :

IOCT 2014, paragraphe 37. Page 27 « *…le CS A CONVENU qu'il n'y avait pas de preuve d'un stock génétique séparé d'espadon dans le sud-ouest de l'océan Indien, bien que cette région ait été sujette à un épuisement local au cours de la décennie écoulée. Partant de ce constat, le résumé exécutif pour l'espadon reflètera cet avis à la Commission. Ainsi, jusqu'à ce que de nouvelles informations soient disponibles,* ***il n'est pas nécessaire de réaliser une évaluation de stock séparée pour cette région***. »

Les résultats du projet IOSSS–ESPADON, complétés de ceux du projet OTOLITHE–ESPADON ont été décisifs dans la prise de cette décision du CS de la CTOI ; une décision qui écarte pour un certain nombre d'années, la mise en place de mesures de gestion concrètes (eg Quotas) pour cette espèce dans le sud-ouest de l'océan Indien, mesures qui auraient pu pénaliser la flottille palangrière réunionnaise.

3.4 Perspectives

Au-delà des résultats de ce projet sur la forme des otolithes d'espadon, d'autres approches pourraient être mises en place dans les années à venir sur les otolithes d'espadon. L'analyse de la composition chimique des otolithes par exemple est l'une des méthodes permettant de les utiliser pour retracer l'histoire de vie du poisson. Cette approche est basée sur le fait que l'otolithe « enregistre » la composition chimique du milieu dans lequel le poisson évolue au cours de sa vie. Cette approche microchimique est surtout utilisée dans la différenciation des individus entre eux (Campana 1999; Thresher 1999; Campana et al. 2000). Elle a déjà été appliquée avec succès dans l'identification des stocks mais aussi dans la discrimination de populations vivants dans des habitats différents (Edmonds et al. 1989; Northcote et al. 1992; Thresher et al. 1994; Campana & Gagné, 1995; Gillanders & Kingsford 1996; Campana 1999; Patterson et al. 1999; Jones et al. 1999; De Pontual et al. 2000; Eldson & Gillanders 2003; Chittaro et al. 2004; Bergenius et al. 2004; Patterson et al. 2004).

*Enfin, cette étude montre aussi l'intérêt d'exploiter la forme des otolithes, en parallèle d'autres approches comme la génétique des populations, pour mieux comprendre la structure des populations de grands pélagiques à l'échelle d'un bassin océanique. Une telle approche pourrait être utilisée par exemple dans le cas du thon germon (*Thunnus alalunga*), une espèce importante pour la pêcherie réunionnaise (la 2ème la plus capturée par les palangriers réunionnais) dont la biologie et la structure sont encore trop peu connues. En effet, le statut du stock de germon de l'océan Indien est actuellement une préoccupation majeure de la CTOI, et la connaissance sur la structure de cette espèce est un enjeu majeur à venir (IOTC–SC17 2014). En ce sens un premier projet sur cette espèce exploitant l'approche de génétique des populations et de microchimie est en court (projet GERMON - http://wwz.ifremer.fr/lareunion/Les-projets/GERMON-en-cours). En fonction des résultats, il pourrait se poursuivre par un projet exploitant la forme des otolithes du thon germon pour fiabiliser les résultats obtenus par les autres approches.*

3.5 Vulgarisation des résultats

L'ensemble de ce projet a été résumé dans un poster en Français (Figure 9). Les résultats ont déjà été présentés à la Commission des thons de l'océan Indien lors de la dernière session du groupe de travail sur les poissons porte-épée (ANNEXE 2). Il est également prévu dans le cadre de la valorisation des résultats de réaliser une présentation en COREPAM et à la Commission Palangre du CRPMEM.

IOSSS – ESPADON / Volet « otolithe »

Evaluation de la structure du stock d'espadon de l'océan Indien à partir des analyses de formes d'otolithes

(J. BOURJEA, H. EVANO, T. MILLE, K. MAHE)

IOSSS

L'espadon est un poisson pélagique caractérisé par sa capacité à réaliser de grandes migrations océaniques. Il est actuellement pleinement exploité dans l'océan Indien par les pêcheries hauturières qui ont capturé sur la période 2007-2011 plus de 25 000 tonnes par an.

Une étude récente exploitant la génétique des populations, a suggéré que les espadons de l'océan Indien formaient une seule et même population (et donc stock), mais qu'il était indispensable de confirmer ce résultat par des études complémentaires utilisant d'autres approches scientifiques

Carte présentant les sites de captures des espadons échantillonnés pour ce projet sur la période 2009 - 2014. Les chiffres indiquent la correspondance au site (voir-dessous).

Matériel et Méthode

- **395 espadons** ont été échantillonnés entre l'Afrique du Sud et la Thaïlande entre 2009 et 2014 grâce au réseau d'observateurs embarqués ou directement à la débarque des navires de pêche.
- Seuls les individus matures dont la taille était comprise entre 71 et 164 cm de longueur totale (moyenne 117.5 cm) ont été inclus dans cette étude.
- l'otolithe est une pièce calcifiée présente dans l'oreille interne et qui croit au fur et à mesure de la vie du poisson.

L'otolithe sagittal

Logiciel TNPC www.tnpc.fr.

- **Les otolithes "sagittal"** droit et gauche ont été extraits de tous les individus.
- L'otolithe entier a été scanné sous lumière réfléchie à partir du logiciel d'acquisition d'images de TNPC pour obtenir son image.
- Pour reconstruire la forme des otolithes la méthode des ellipses de Fourier a été utilisée grâce à TNPC. Cette méthode permet de reconstruire le forme de chaque otolithe via la superposition d'ellipses.

	Site	LJF (cm)	Sexe			année				Total
			Male	Femelle	autre	2009	2010	2013	2014	
1	La Réunion	143.0±23.0	38	59	10	61	46			107
2	Mozambique	135.1±38.6	11	10	13		34			34
3	Rodrigues	165.2±29.8	29	54	0	39	44			83
4	AFS	185.9±36.9			20			5	15	20
5	South Malagasy	150.4±34.2	21	48	2	62	9			71
6	Sri Lanka	167.3±57.5	8	20	48	23	53			76
7	Thaïlande	98.2±20.3		3	1		4			4
	Total	155.0±38.6	107	194	94	185	190	5	15	395

Nombre d'otolithes d'espadons échantillonnés par an, sexe (mâle, femelle et autres (=non identifié)) et zone.

Comparaison de l'otolithe droit et gauche

Pour voir si la forme de l'otolithe droit est identique à celle du gauche, une comparaison de la forme de 91 paires d'otolithes différentes a été réalisée.

N=91

Forme moyenne d'un otolithe d'espadon reconstruit à partir des descripteurs des ellipses de Fourier. Cette figure montre le chevauchement parfait de l'otolithe droit (trait en pointillé) et gauche (trait plein).

Les résultats ont indiqué que les otolithes droit et gauche d'un même individu ont la même forme.

Analyse hiérarchique

Cette analyse permet de regrouper les individus ayant des formes d'otolithe proches et de déterminer leur répartition par zone d'échantillonnage.

Sampling area	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Total
South Africa	2	5	13	20
South Malagasy	11	20	40	71
Mozambique	3	13	18	34
La Reunion	20	23	64	107
Rodrigues	12	23	48	83
Sri Lanka	17	17	42	76
Thailand	1	1	2	4
Total	66	102	227	395

Matrice de répartition des différents groupes par zone d'échantillonnage.

Cette analyse a permis de mettre en évidence que les otolithes analysés se regroupent en 3 grands groupes.

Elle a montré également que l'origine des individus composant ces groupes est diverse : les espadons viennent de l'ensemble des zones échantillonnées.

Quels sont les facteurs qui influencent la forme des otolithes ?

Afin de comprendre quels sont les effets « extérieurs » qui influencent la forme des otolithes, différentes analyses ont été utilisées comme des analyses en composantes principales, des analyses linéaires discriminantes.

L'objectif de ces analyses était de voir dans quelle mesure le sexe, l'année, la taille et la zone d'échantillonnage avaient un effet sur la forme de l'otolithe.

Les résultats ont montré que:

1- Il n'y avait pas d'effet du sexe sur la forme des otolithes. En d'autres termes, l'otolithe des femelles et des mâles d'individus matures présentent des formes similaires

2- Il n'y a pas d'effet de la taille des espadons sur la forme des otolithes. En d'autres termes, bien que l'otolithe grandisse en parallèle de la croissance du poisson, sa forme reste similaire durant toute la vie de l'espadon une fois qu'il est mature.

3- Il n'y a pas d'effet de l'année sur la forme de l'otolithe. En d'autres termes, il existe une stabilité dans la forme de l'otolithe moyenne des espadons adultes d'une année sur l'autre.

4- Il n'existe pas d'effet de la zone d'échantillonnage d'origine. En d'autres termes, il n'existe pas une structure liée à l'origine géographique des espadons dans l'océan Indien

Conclusions

- **Aucune structuration de l'espadon en sous populations n'est observable sur la base de la forme des otolithes**
- **L'analyse des formes des otolithes d'espadon fournit les mêmes résultats que les analyses génétiques : un seul stock dans l'océan Indien**

Perspectives

- **Etendre l'étude à l'océan Atlantique et à l'océan Pacifique**
- **Tester sur d'autres espèces comme le thon Germon**

Ifremer CENTRE SCLERO CHRONO LOGY

L'Europe s'engage à La Réunion avec le FEP

Liberté • Égalité • Fraternité RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

UNION EUROPEENNE

www.ifremer.fr/lareunion

Ifremer

Poster réalisé en 2015 par S.Fauré

Remerciements : à tous les partenaires impliqués dans le projet IOSSS-Espadon, à Capfish SA (Afrique du Sud) et observateurs embarqués ayant collecté les têtes d'espadon

Figure 9 : Poster de vulgarisation du projet Otolithe-Espadon

4 Indicateurs de production

Synthèse des indicateurs de production sur la période octobre 2013 – mai 2015 :

Nombre d'articles scientifiques/document de travail soumis ou en préparation	3
Nombre de rapports de projet / de travail	1
Nombre de rapports de mission	1
Nombre de présentations orales	1
Nombre de poster, dont de vulgarisation	2

Articles Scientifiques

- Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (acceptée) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. ICES Journal of Marine Science (en préparation)
- Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. IOTC WPB12 – 12. 12p.
- Evano H., Métral L., Brisset B., Bourjea J., Nikolic N., Mahé K. (2014) Guide de prélèvement des otolithes chez les grands pélagiques V.1.0. 15p. http://dx.doi.org/10.13155/32318 (ANNEXE 4)

Rapport de projet ou de travail

- Bourjea J. Mahé K., Mille T. and Evano H. (2015) Evaluation de la structure du stock d'espadon de l'océan indien à partir des otolithes. RST Délégation Réunion/2015-04. 27p. – (présent rapport)
- Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. IOTC-WPB12, 21-25 octobre 2014, Japon. http://archimer.ifremer.fr/doc/00269/37980/

Rapport de missions

- Mahé K. (2013) Rapport de mission à la Délégation Océan Indien. 02 au 06 Décembre 2013. 1p. (ANNEXE 3)

Présentation orale :

- Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. IOTC-WPB12, 21-25 octobre 2014, Japon. (ANNEXE 2)

Poster

- Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. Poster présenté au 5th international otolith symposium 20-24 Octobre 2014, Mallorca, Iles Baléares, Espagne. http://archimer.ifremer.fr/doc/00220/33150/ (ANNEXE 1)

5 Bibliographie

Agüera, A., and Brophy, D. 2011. Use of sagittal otolith shape analysis to discriminate Northeast Atlantic and Western Mediterranean stocks of Atlantic saury, Scomberesox saurus saurus (Walbaum). Fisheries Research, 110: 465–471.

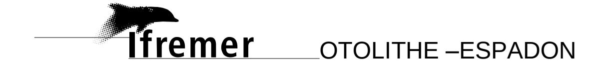
Begg, G. A., and Brown R. W. 2000. Stock identification of haddock (Melanogrammus aeglefinus) on Georges Bank based on otolith shape analysis. Transactions of the American Fisheries Society, 129: 935–945.

Begg, G., Overholtz, W. J., and Munroe, N. J. 2000. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (Melanogramus aeglefinus) stocks on Georges Bank. Fishery Bulletin, 99: 1–14.

Benzinou, A., Carbini, S., Nasreddine, K., Elleboode, R., and Mahé, K. 2013. Discriminating stocks of striped red mullet (Mullus surmuletus) in the Northwest European seas using three automatic shape classification methods. Fisheries Research, 143: 153–160.

Bergenius M. A. J., Mapstone B. D., Begg G. A. and Murchie C. D. 2005. The use of otolith chemistry to detremine stock structure of three epinepheline serranid coral reef fishes on the Great Barrier Reef, Australia. Fish. Res. 72 : 253-270.

Bird, J. L., Eppler, D. T., and Checkley, D. M. 1986. Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 43: 1228–1234.



Bourjea J., Lecouls S., Muths D., and Evano H. 2012. IOSSS–ESPADON: étude de la structure du stock d'espadon de l'océan Indien. RST-DOI/2012-10

Brill, R. W. 1994. A review of temperature and oxygen tolerance studies of tunas pertinent to fisheries oceanography, movement models and stock assessments. Fisheries Oceanography, 3: 204–216.

Cadrin, S. X., and Friedland, K. D. 1999. The utility of image processing techniques for morphometric analysis and stock identification. Fisheries Research, 43: 129–139.

Campana S. E. & Casselman J. M. 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50 : 1062-1083.

Campana S. E., and Gagné J. 1995. Cod stock discrimination using ICPMS elemental assys of otoliths. In Secor D., Dean J et Campana S., Recent developpment in Fish Otolith Research. University of south Carolina Press., Columbia, SC. 671-691.

Campana S. E., and Neilson J. D. 1985. Microstructure of fish otoliths. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42 : 1014-1032.

Campana S. E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths : pathways, mechanisms and applications. Mar. Ecol. Prog Ser. 188 : 263-297.

Campana S., Chouinard G., Hanson J., Fréchet A., and Brattey J. 2000. Otolith elemental fingerprints as biological tracers of fish stocks. Fish. Res. 46 : 343-357.

Capoccioni, F., Costa, C., Aguzzi, J., Menesatti, P., Lombarte, A., and Ciccotti, E. 2011. Ontogenetic and environmental effects on otolith shape variability in three Mediterranean European eel (Anguilla anguilla, L.) populations. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 397: 1–7.

Cardinale, M., Doerin-Arjes, P., Kastowsky, M., and Mosegaard, H. 2004. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (Gadus morhua) otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 61: 158–167.

Carey, F. G. 1990 Further acoustic telemetry observations of swordfish. In Planning the Future of Billfishes, Research and Management in the 90s and Beyond, pp. 103–122. Ed. by G. A. Savannah. National Coalition for Marine Conservation.

Castonguay, M., Simard, P., and Gagnon, P. 1991. Usefulness of Fourier analysis of otolithshape for Atlantic mackerel (Scomber scombrus) stock discrimination. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 48: 296–302.

Chittaro P. M., Fryer B. J., and Sale P. F., 2004. Discrimination of French grunts (Haemulon flavolineatum Desmarest, 1823) from mangrove and coral reef habitats using otolith microchemistry. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 308 : 169-183.

De Pontual H, Lagardère F., Troadec H., Batel A, Désaunay Y., and Koutsikopoulos C. 2000. Otoliths imprinting of sole (Solea solea) from the Bay of Biscay: a tool to discriminate individuals from nursery origins ? Oceanologica acta. 23 : 497-513.

De Vries D. A., Grimes C. B., and Prager M. H. 2002. Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. Fish. Res. 57 : 51-62.

Dewar, H., Prince, E. D., Musyl, M. K., Brill, R. W., Sepulveda, C., Luo, J., Foley, D., Orbesen, E. S., Domeier, M. L., Nasby-Lucas, N., Snodgrass, D., Laurs, R. M., Hoolihan, J. P., Block, B. A., and McNaughton, L. 2011. Movements and behaviors of

swordfish in the Atlantic and Pacific Oceans examined using pop-up satellite archival tags. Fisheries Oceanography, 20: 219–241.

Edmonds, J. S., Moran, M., Caputi, N., and Morita, M. 1989. Trace element analysis of fish sagittae as an aid to stock identification : Pink Snapper (Chrysophrys auratus) in western australian waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 46 : 50-54.

Efron, B., 1982. The jackknife, the bootstrap, and others resampling plans. Society of Industrial and Applied Mathematics CBMS-NSF Monographs 38.

Elsdon, T. S., and Gillanders, B. M. 2003. Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. Reviews Fish Biol. Fish. 13 : 219-235.

Evano, H., Métral, L., Brisset, B., Bourjea, J., Nikolic, N., and Mahé, K. 2014. Guide de prélèvement des otolithes chez les grands pélagiques V.1.0. 15p.

Everitt, B. S, and Dunn, G. 1991. Apllied Multivariate Data Analyis. Edward Arnold. London. Pp. 219-220.

Ferguson, G. J., Ward, T. M., and Gillanders, B. M. 2011. Otolith shape and elemental composition: Complementary tools for stock discrimination of mulloway (Argyrosomus japonicus) in southern Australia. Fisheries Research, 110: 75–83.

Fox, J., and Weisberg, S. 2011. An {R} Companion to Applied Regression. 2nd edn. Thousand Oaks CA.

Friedland, K. D., and Reddin, D. G. 1994. The use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (Salmo salar L.). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 51: 91–98.

Galley, E. A., Wright, P. J., and Gibb, F. M. 2006. Combined methods of otolith shape analysis improve identification of spawning areas of Atlantic cod. ICES Journal of Marine Science, 63: 1710-1717.

Gauldie, R. W., and Jones, J. B. 2000. Stocks, or geographically separated populations of the New Zealand orange roughy, Hoplostethus atlanticus, in relation to parasite infestation, growth rate, and otolith shape. Bulletin of Marine Science, 67: 949–971.

Gauldie, R. W., and Crampton, J. S. 2002. An eco-morphological explanation of individual variability in the shape of the fish otolith: comparison of the otolith of Hoplostethus atlanticus with other species by depth. J Fish Biol 60:1204–1221.

Gillanders, B. M., and Kingsford M. J. 1996. Elements in otoliths may elucidate the contribution of estuarine recruitment to sustaining coast reef populations of a temperate reef fish. Mar. Ecol. Prog. Ser. 141 : 13-20.

Gonzalez-Salas, C., and Lenfant, P. 2007. Interannual variability and intraannual stability of the otolith shape in european anchovy Engraulis encrasicolus (L.) in the Bay of Biscay. J. Fish Biol., 70, 35-49.

Heiberger, R. M., and Holland, B. 2004. Statistical Analysis and Data Display: An Intermediate Course with Examples in S-Plus, R, and SAS. Springer Texts in Statistics. Springer.

Hüssy, K. 2008. Otolith shape in juvenile cod (Gadus morhua): Ontogenetic and environmental effects. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 364, 35–41.doi:10.1016/j.jembe.2008.06.026.

IOTC 2008. Report of the Eleventh Session of the Scientific Committee. Victoria, Seychelles, 1-5 December. IOTC-2008-SC-R[E]. 166 pp.

IOTC–SC17 2014. Rapport de la Dix-septième session du Comité scientifique de la CTOI. Seychelles, 8-12 décembre 2014. IOTC–2014–SC17–R[F] 382 pp.

Jones, G. P., Millcich, M. J., Erosile, M. J., and Lunow, C. 1999. Self-recruitment in a coral fish population. Nature. 402 : 802-804.

Kadagi, N. I., Harris, T., and Conway, N. 2011. East Africa billfish Conservation and Research: Marlin, Sailfish and Swordfish Mark-Recapture field studies. 12 pp.

Kristtofersen, J. B., and Magoulas, A. 2008. Population structure of anchovy Engraulis encrasicolus L. in the Mediterranean Sea inferred from multiple methods. Fisheries Research 91, 187-195.

Kuhl, F., and Giardina, C. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. Computer Graphics and Image Processing, 18: 236–258.

Lê, S., Josse, J., and Husson, F. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. Journal of Statistical Software, 25: 1–18.

Lecouls, S., and Bourjea, J. 2010. Bilan de l'état des stocks et des mesures de gestion de l'Espadon *Xiphias gladius* dans les océan Atlantique, Pacifique, Indien et en Mer Méditerranée. Revue Bibliographique. RST Délégation Réunion/2010-03. 41p

Legendre, P., and Legendre, L. F. J. 2012. Numerical Ecology. 2nd edn. Elsevier Science. 1006 pp.

Legua, J., Plaza, G., Pérez, D., and Arkhipkin, A. 2013. Otolith shape analysis as a tool forstock identification of the southern blue whiting, Micromesistius australis. Latin American Journal of Aquatic Research, 41: 479–489.

Lestrel, P. E. 2008. Fourier Descriptors and their Applications in Biology. Cambridge University Press, Cambridge. 484 pp.

Longhurst, A. 1998. Ecological Geography of the Sea. Academic Press, San Diego. 398 pp.

Megalofonou, P. 2006. Comparison of otolith growth and morphology with somatic growth and age in young-of-the-year bluefin tuna. Journal of Fish Biology, 68: 1867–1878.

Mérigot, B., Letourneur, Y., and Lecomte-Finiger, R. 2007. Characterization of local populations of the common sole Solea solea (Pisces, Soleidae) in the NW Mediterranean through otolith morphometrics and shape analysis. Marine Biology, 151: 997–1008.

Murdoch, D. J., and Chow, E. D. 1996. A graphical display of large correlation matrices. The American Statistician, 50: 178-180.

Muths, D., Le Couls, S., Evano, H., Grewe, P., and Bourjea, J. 2013. Multi-Genetic Marker Approach and Spatio-Temporal Analysis Suggest There Is a Single Panmictic Population of Swordfish *Xiphias gladius* in the Indian Ocean. PLoS ONE, 8(5): e63558.

Northcote, T., Hendy, C., Nelson, C., and Boubee, J. 1992. Tests for migratory history of the New-Zealand common smelt (Retropinna retropinna) using otolith isotopic composition. Ecol. Freshwater Fish. 1 : 61-72.

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, H. M. H., and Wagner, H. 2013. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-10.

Palko, B. J., Beardsley, G. L., and Richards, W. J. 1981. Synopsis of the biology of the swordfish, *Xiphias gladius* Linnaeus. FAO Fisheries Synopis, 127 pp.

Patterson, H. M., Kingsford, M. J. and McCulloch, M. T. 2004. Elemental signatures of Pomacentrus coelestis otoliths at multiple spatial scales on the Great Barrier Reef, Australia. Mar. Ecol. Prog. Ser. 270 : 229-239.

Patterson, H. M., Thorrold, S. R., and Shenker, J. M. 1999. Analysis of otolith chemistry in Nassau grouper (Epinephelus striatus) from the Bahamas and Belize using solution-based ICP-MS. Coral Reefs. 18(2) : 171-178.Paul, K., Oeberst, R., and Hammer, C. 2013. Evaluation of otolith shape analysis as a tool for discriminating adults of Baltic cod stocks. Journal of Applied Ichthyology, 29: 743–750.

Petursdottir, G., Begg, G.A., and Marteinsdottir, G., 2006. Discrimination between Icelandic cod (Gadus morhua L.) populations from adjacent spawning areas based on otolith growth and shape. Fisheries Research 80, 182-189.

Polit, D. F., 1996. Data Analysis and Statistics for Nursing Research. Appleton and Lange, Stamford, Connecticut. pp. 320-321.

Prince, E. D., and Goodyear, C. P. 2006 Hypoxia based habitat compression of tropical pelagic fishes. Fisheries Oceanography, 15: 451–464.

R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rencher, A. C., and Christensen, W. F. 2012. Methods of Multivariate Analysis. 3rd edn. Wiley, New York. 800 pp.

Rohlf, F. J., and Archie, J. W. 1984. A Comparison of Fourier Methods for the Description of Wing Shape in Mosquitoes (Diptera: Culicidae). Systematic Biology, 33: 302-317.

Sedberry, G. R., and Loefer, J. F. 2001. Satellite telemetry tracking of swordfish *Xiphias gladius*, off the eastern United States. Marine Biology, 139: 355–360.

Sherman, K., and Hempel, G. 2008. The UNEP Large Marine Ecosystem Report: A perspective on changing conditions in LMEs of the world's Regional Seas. UNEP Regional Seas Report and Studies No. 182. United Nations Environment Programme. Nairobi, Kenya.

Simoneau, M., Casselman, J. M., and Fortin, R. 2000. Determining the effect of negative allometry (length/height relationship) on variation in otolith shape in lake trout (Salvelinus namaycush), using Fourier-series analysis. Canadian Journal of Zoology, 78: 1597–1603.

Stransky, C., 2005. Geographic variation of golden redfish (Sebastes marinus) and deep-sea redfish (S. mentella) in the North Atlantic based on otolith shape analysis. ICES Journal of Marine Science 62, 1691-1698.

Stransky, C., Baumann, H., Fevolden, S. E., Harbitz, H. H., Nedreeas, K. H., Salberg, A. B., and Skartein, T.H. 2008. Separation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod by outer otolith shape analysis. Fisheries Research 90, 26-35.

Swan, S. C., Geffen, A. J., Morales-Nin, B., Gordon, J. D. M., Shimmield, T., Sawyer, T., and Massutí, E. 2006. Otolith chemistry: an aid to stock separation of Helicolenus

dactylopterus (bluemouth) and Merluccius merluccius (European hake) in the Northeast Atlantic and Mediterranean. ICES Journal of Marine Science, 63: 504–513.

Thresher, R. E., 1999. Elemental composition of otoliths as a stock delineator in fishes. Fisheries Research. 43 : 165-204.

Thresher, R., Proctor, C., Gunn, J., and Harrowfield, I. 1994. An evaluation of electron probe microanalysis of otoliths for stock delineation and identification of nursery areas in a southern temperate groundfish, Nemadactylus macropterus (Cheilodactylidae). Fish. Bull. 92 : 817-840.

Torres, G. J., Lombarte, A., and Morales-Nin, B. 2000. Sagittal otolith size and shape variability to identify geographical intraspecific differences in three species of genus Merluccius. Journal of the Marine Biological Association of the UK, 80: 333–342.

Tracey, S. R., Lyle, J. M., and Duhamel, G. 2006. Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification. Fisheries Research, 77: 138–147.

Venables, W. N., and Ripley, B. D. 2002. Modern Applied Statistics with S. 4th edn. Springer, New York. 498 pp.

Vignon, M., and Morat, F. 2010. Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. Marine Ecology Progress Series, 411: 231–241.

6 Listes des annexes

ANNEXE 1

Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. Poster présenté au 5ème congrès International sur l'Otolithe – 20-24 Octobre 2014, Mallorca, Iles Baléares, Espagne.

ANNEXE 2

Mahé K., Evano H., Mille T. and Bourjea J. (2014) Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structre of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean. IOTC-WPB12, 21-25 octobre 2014, Japon.

ANNEXE 3

Rapport de mission de K. Mahé à La Réunion (02 au 06 décembre 2013)

ANNEXE 4

Guide de prélèvement des otolithes chez les grands pélagiques

Annexe I



(1)



(2)

Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean


K. MAHE(1), H. EVANO(2), T. MILLE(1), J. BOURJEA(2)

ESPADON
IOSSS



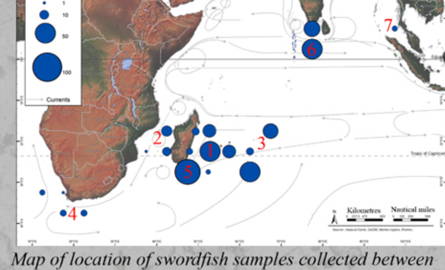
20-24 October 2014
Mallorca, Balearic Islands
Spain



Swordfish is a highly migratory oceanic species, currently fully exploited by several commercial fisheries in the Indian Ocean. The levels of catches in the whole Indian Ocean for 2007–2011 are 25 461 tons by year.

A recent study on population genetics using multi-genetic marker approach and spatio-temporal analysis suggested there is a single panmictic population (i.e. a single stock) of swordfish in the Indian Ocean (Muths *et al*. 2013).
This study also concluded in the need of using other stock discrimination approaches to unravel the real stock structure of this species.

Muths et al. (2013) Multi-Genetic Marker Approach and Spatio-Temporal Analysis Suggest There is a Single Panmictic Population of Swordfish Xiphias gladius in the Indian Ocean. PLoS ONE



Map of location of swordfish samples collected between 2009 and 2014 in the Indian Ocean. Each number corresponds to sampling area (to see table below).

Materials and Methods

-> Only mature fish ranging from 71 to 164 cm total length (mean 117.5 cm)were included in this study.

-> 395 swordfish from South Africa to Thailand were collected from 2009 to 2014 by onboard observers on commercial fishing vessels or at landing.

-> Sagittal otoliths were extracted.



Sagittal otolith.



TNPC software
www.tnpc.fr

* Images of the whole otoliths were scanned automatically under reflected light using the image analysis system TNPC
* For each otolith, the first 99 elliptical Fourier harmonics (Hi) were extracted and normalised with respect to the first harmonic using the TNPC software
* To determine the number of harmonics required to reconstruct the otolith outline, the Fourier Power (PF) was calculated for each individual otolith as a measure of the amount of contour rebuilt by each harmonic:

$$F(n_k) = \sum_{HI=1}^{n_k} \frac{A_{HI}^2 + B_{HI}^2 + C_{HI}^2 + D_{HI}^2}{2}$$

AHI, BHI, CHI and DHI are the parameters of the HIth harmonic and nk is the total number of harmonics included.

	Sampling area	Total Length (cm)	Sex			Sampling year				Total
			Male	Female	Other	2009	2010	2013	2014	
1	La Réunion	143.0±23.0	38	59	10	61	46			107
2	Mozambique	135.1±38.6	11	10	13		34			34
3	Rodrigues	165.2±29.8	29	54	0	39	44			83
4	South Africa	185.9±36.9			20			5	15	20
5	South Malagasy	150.4±34.2	21	48	2	62	9			71
6	Sri Lanka	167.3±57.5	8	20	48	23	53			76
7	Thailand	98.2±20.3		3	1		4			4
	Total	155.0±38.6	107	194	94	185	190	5	15	395

Number of swordfish otolith samples by year, sex (Male, Femelle, Other : no identication of sex) and sampling area.

Left otolith vs Right otolith

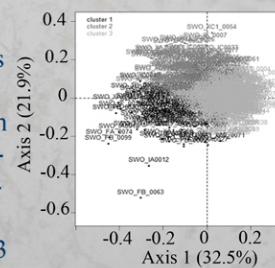
In order to compare left and right otolith shapes, a mirror image of left otoliths was used.
Side effect was tested by Redundancy analysis (RDA) combined to permutation tests on 91 individual samples and showed no significant differences in the outline shape between the right and left otoliths.



Mean otolith outline shapes formed with reverse Fourier transform of the outline using the first 43 harmonics showing the overlap and variations between right (dark grey dash line) and left (grey solid line) otolith.

Hierarchical clustering Analysis

The hierarchical clustering analysis using Ward's hierarchical algorithm based on the squared Euclidean distances performed on the matrix of 43 Fourier harmonics identified three clusters of fishes.



The dots with sample names represent individuals (N=395).

Sampling area	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Total
South Africa	2	5	13	20
South Malagasy	11	20	40	71
Mozambique	3	13	18	34
La Reunion	20	23	64	107
Rodrigues	12	23	48	83
Sri Lanka	17	17	42	76
Thailand	1	1	2	4
Total	66	102	227	395

Classification matrix of the hierarchical clustering on principal components for mature swordfish.

This analysis discriminated 3 different groups, however each group was composed by some individual samples from all geographical areas.

Linear Discriminant Analysis

* Among the 99 Fourier harmonics extracted, the first 43 harmonics explained 99.99% of the otolith variation. Principal Components Analysis (PCA) was applied to EFDs of otolith contours.

* The RDA followed permutation test :
Otolith shape ~Total fish length (TL)+Sex+Sampling year+Sampling area

* Linear Discriminant Analysis (LDA)
jackknife cross-validation +Wilk's lambda criteria were calculated

Sampling area	South Africa	South Malagasy	Mozambique	La Réunion	Rodrigues	Sri Lanka	Thailand	%
South Africa	4	3	2	1	9	1	0	20
South Malagasy	5	19	4	20	9	13	1	27
Mozambique	3	2	5	11	9	4	0	15
La Réunion	5	17	16	41	14	13	1	38
Rodrigues	2	12	8	23	28	10	0	34
Sri Lanka	2	12	14	13	12	21	2	28
Thailand	0	2	1	0	1	0	0	0

Jackknifed correct classification matrix of the linear function discriminant analysis for mature swordfish (N=395) between sampling areas based on the first normalized 43 harmonics. The percentages in each row represent the classification into the sampling area given in columns (correct classification in grey square).

	F	p
TL	0.835	0.464
sex	1.514	0.121
Sampling year	0.490	0.725
Sampling area	2.387	0.002

Results of RDA : variables correlated to the otolth shape.

*Only sampling area was significant ($p<0.05$)
* The overall jackknife classification success was 30%
* Wilks'λ = 0.017; F=1.255; p=0.001
* misclassification explained by all sampling areas

Conclusion

* No geographical sub-structures are distinguishable in the Indian Ocean swordfish stock.

* Otolith shape approach corroborates genetic approach on the same dataset.

Aknowldgement :
All colleagues involved in the South West Indian Ocean Fisheries Project (IOSSS), the CapFish SA (Pty) Ltd (South Africa) team, the scientific observers and the crew of longliners.

Perspectives

* Shape otolith study to analyse the spatial structure of swordfish among Atlantic-Indian-Pacific oceans.





Annexe II



12TH WORKING PARTY ON BILLFISH – WPB12

21–25 October 2014, JAPAN



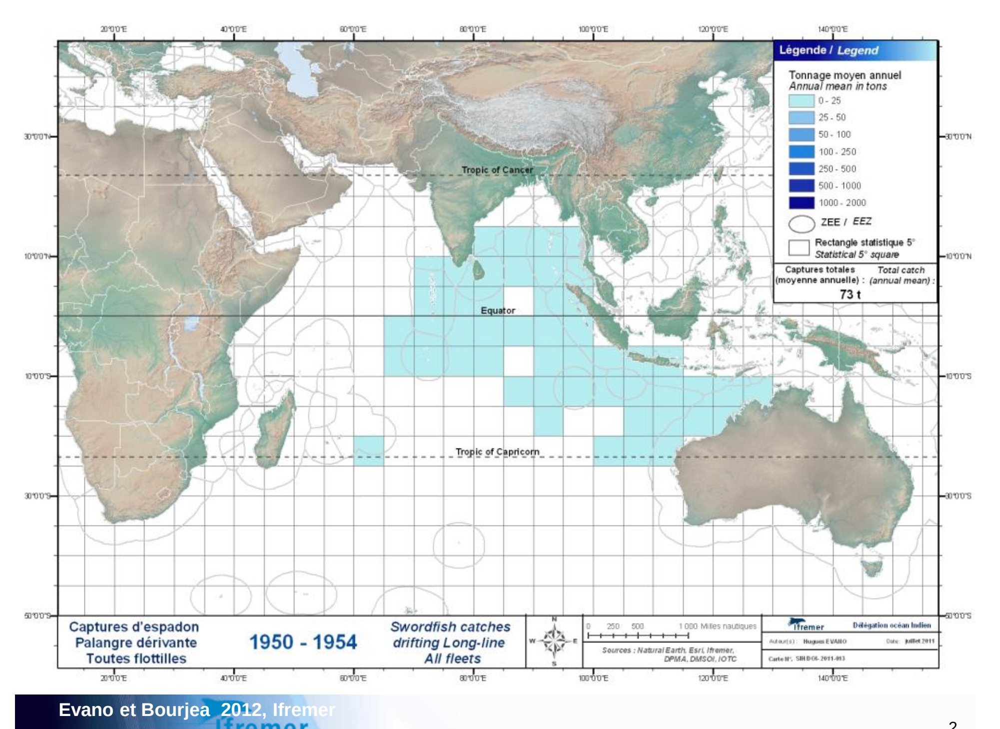
Otolith shape as a valuable tool to evaluate the stock structure of swordfish (*Xiphias gladius*) in the Indian Ocean

Kélig MAHE, Hugues EVANO, Tiphaine MILLE, <u>Jérôme BOURJEA</u>

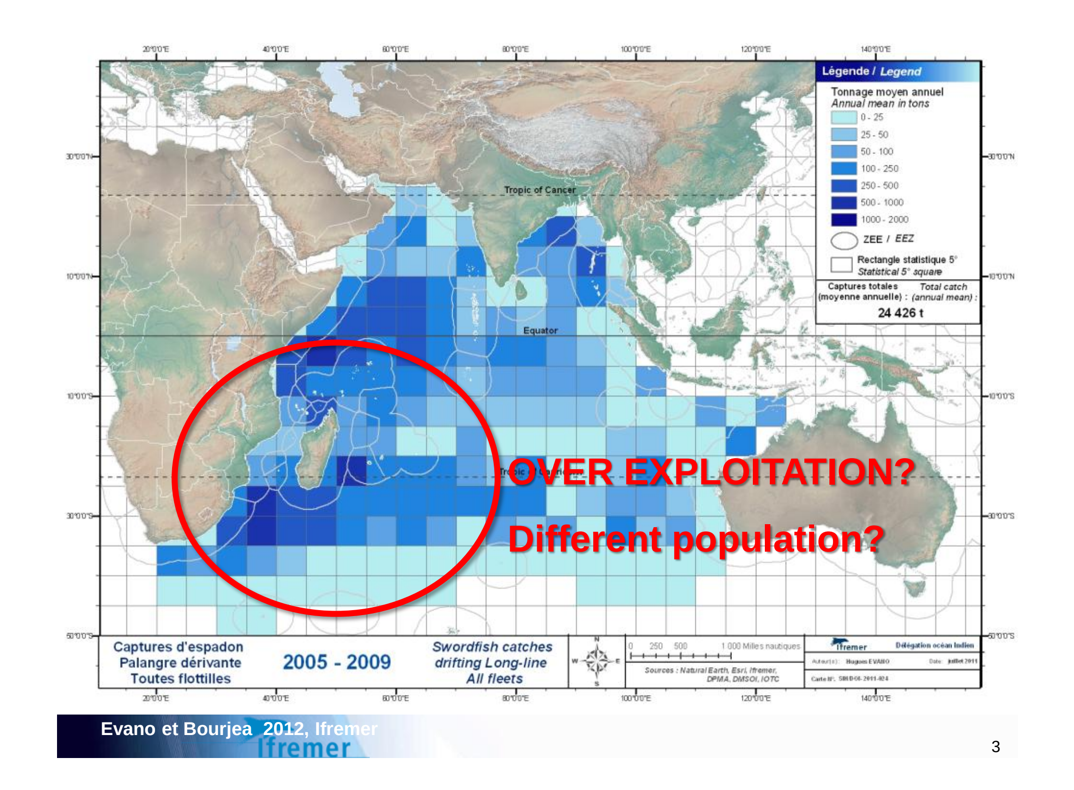


Pôle de Sclérochronologie de Boulogne sur mer - France

Délégation Océan Indien - France



Evano et Bourjea 2012, Ifremer



Evano et Bourjea 2012, Ifremer

3



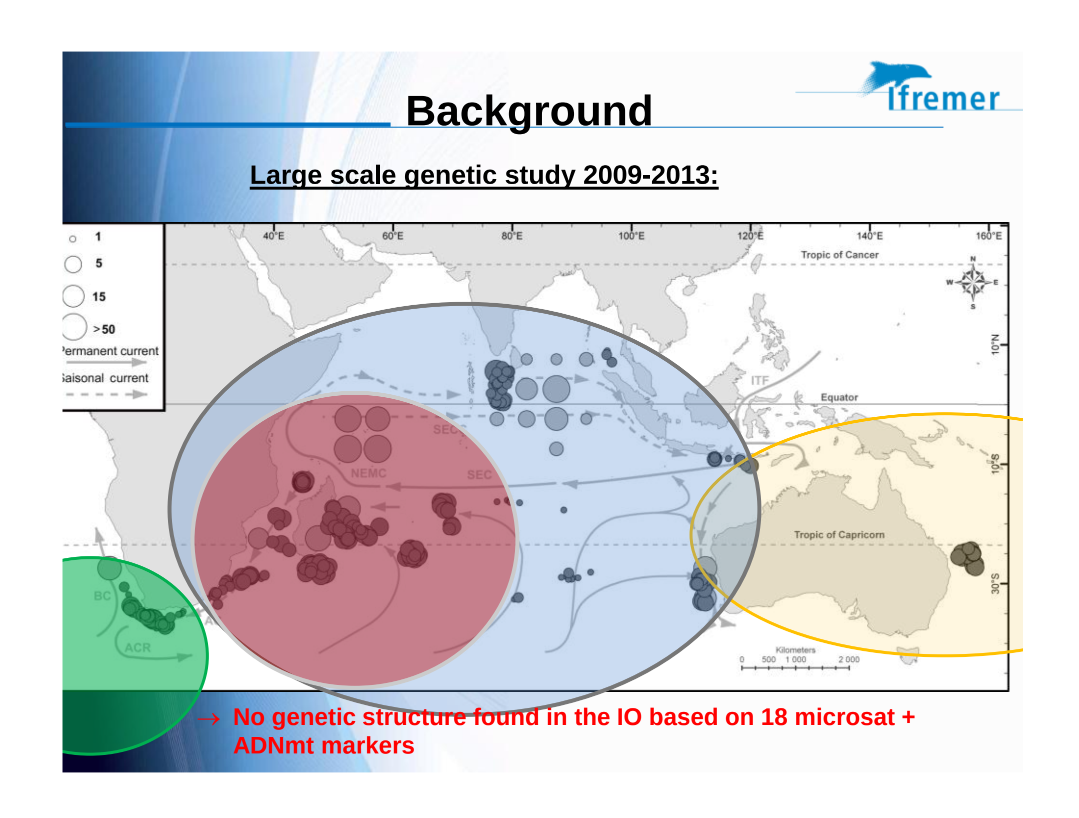
Background

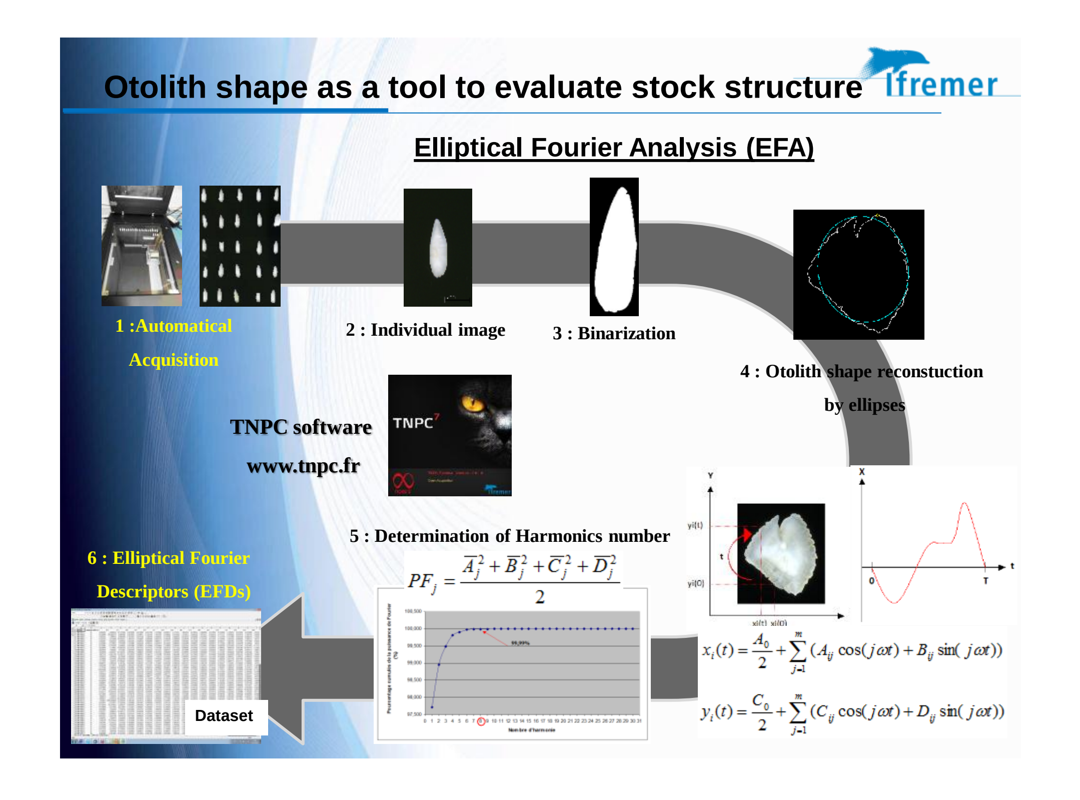
SC 2013, Status of SWO in the IO and SWIO:

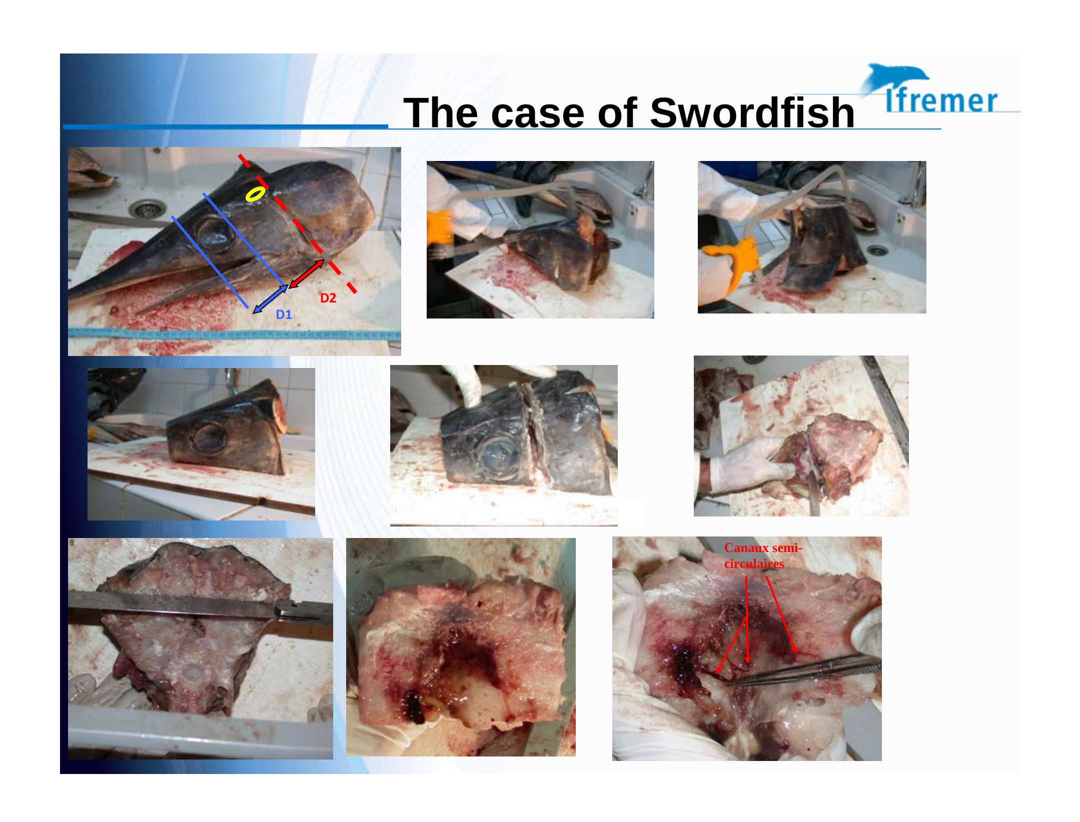
"*Most of the evidence provided to the WPB indicated that the resource in the southwest Indian Ocean is not a separate genetic stock. However this region has been subject to localised depletion over the past decade and biomass remains below the level that would produce MSY (BMSY).*"

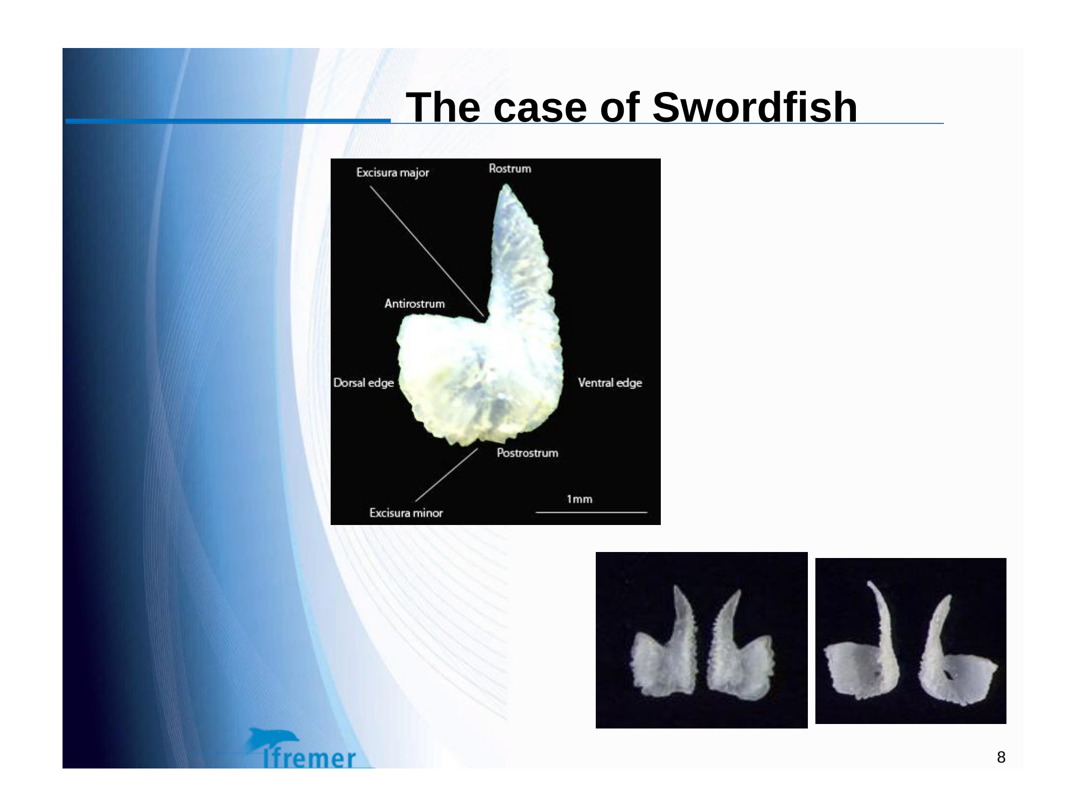
→ **SA on IO + SWIO is still requested by the Commission. Further investigation on stock structure of SWO is still needed and requested**

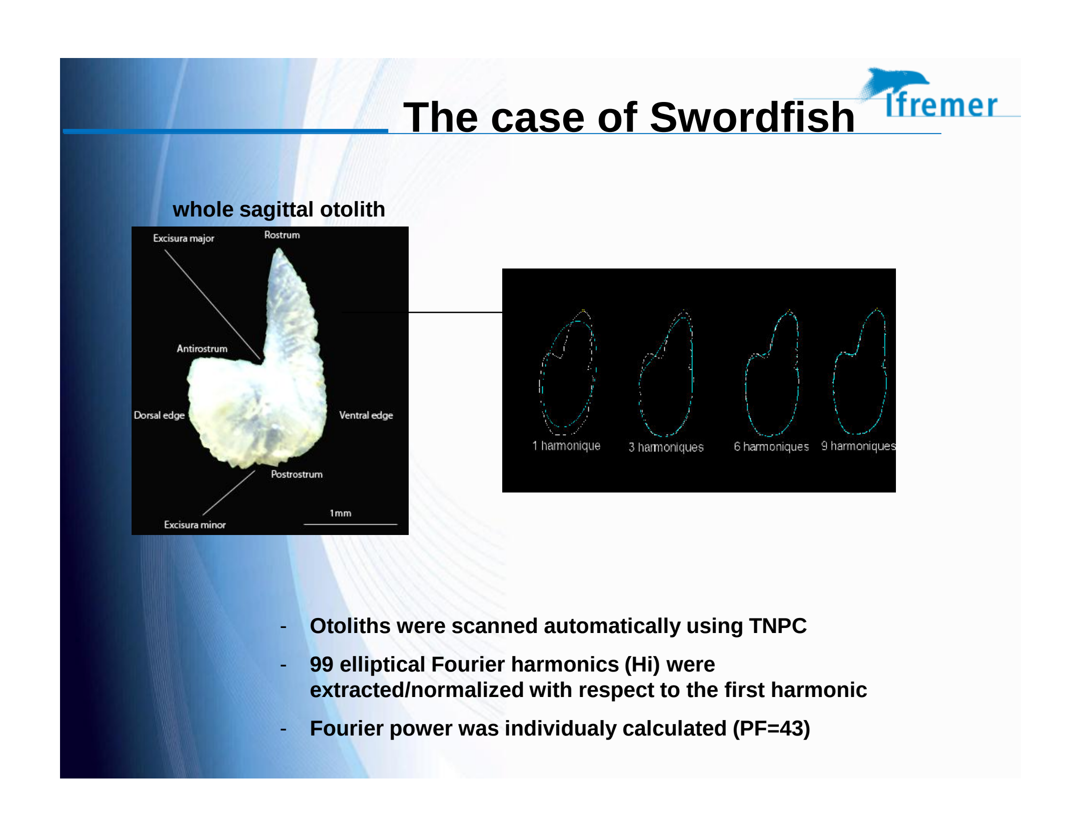
→ **What do we know on the stock structure of Indian Ocean Swordfish?**

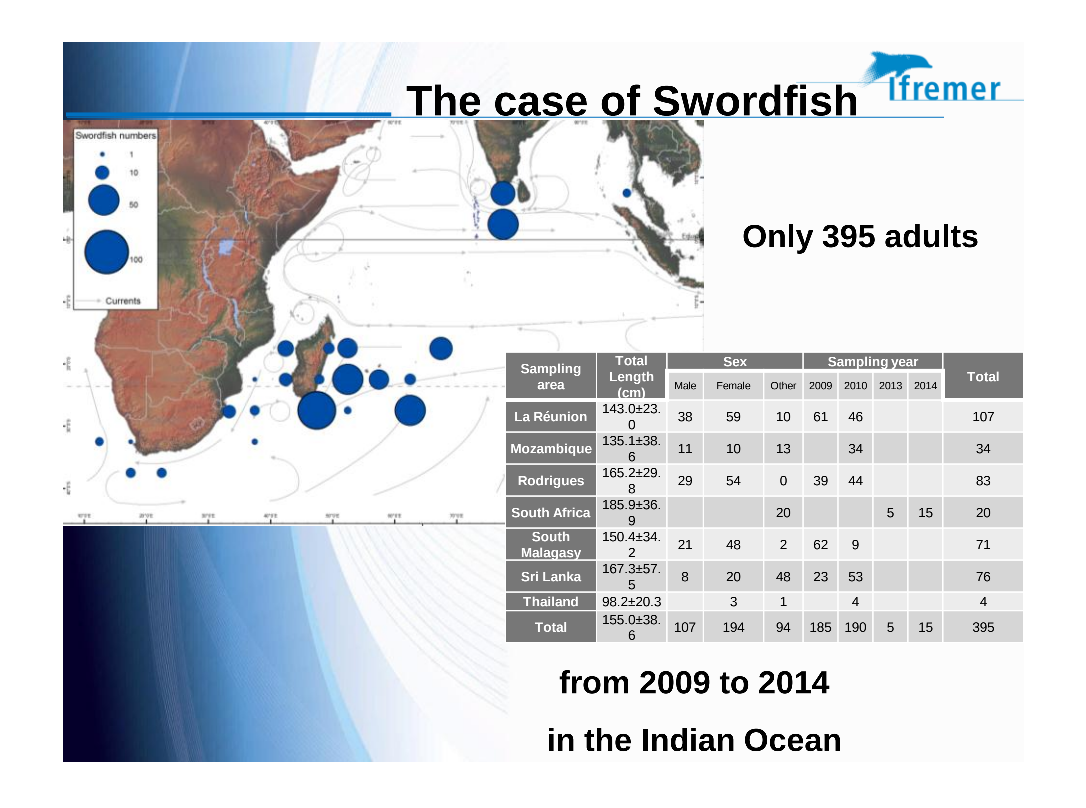

Background
Ifremer
Large scale genetic study 2009-2013:
1
5
15
> 50
Permanent current
Saisonal current
40°E
60°E
80°E
100°E
120°E
140°E
160°E
Tropic of Cancer
ITF
Equator
NEMC
SEC
SEC
Tropic of Capricorn
BC
ACR
10°N
10°S
30°S
Kilometers
0 500 1 000 2 000
→ No genetic structure found in the IO based on 18 microsat + ADNmt markers


Otolith shape as a tool to evaluate stock structure
Ifremer
Elliptical Fourier Analysis (EFA)
1 :Automatical Acquisition
2 : Individual image
3 : Binarization
4 : Otolith shape reconstuction by ellipses
TNPC software
www.tnpc.fr
TNPC
5 : Determination of Harmonics number
$PF_j = \frac{A_j^2 + B_j^2 + C_j^2 + D_j^2}{2}$
6 : Elliptical Fourier Descriptors (EFDs)
Dataset
$x_i(t) = \frac{A_0}{2} + \sum_{j=1}^{m} (A_{ij} \cos(j\omega t) + B_{ij} \sin(j\omega t))$
$y_i(t) = \frac{C_0}{2} + \sum_{j=1}^{m} (C_{ij} \cos(j\omega t) + D_{ij} \sin(j\omega t))$


The case of Swordfish
Ifremer
D1
D2
Canaux semi-circulaires


The case of Swordfish
Excisura major
Rostrum
Antirostrum
Dorsal edge
Ventral edge
Postrostrum
Excisura minor
1mm
Ifremer
8





Sampling area	Total Length (cm)	Sex			Sampling year				Total
		Male	Female	Other	2009	2010	2013	2014	
La Réunion	143.0±23.0	38	59	10	61	46			107
Mozambique	135.1±38.6	11	10	13		34			34
Rodrigues	165.2±29.8	29	54	0	39	44			83
South Africa	185.9±36.9			20			5	15	20
South Malagasy	150.4±34.2	21	48	2	62	9			71
Sri Lanka	167.3±57.5	8	20	48	23	53			76
Thailand	98.2±20.3		3	1		4			4
Total	155.0±38.6	107	194	94	185	190	5	15	395

Otolith Symmetry : are left and right similar?

Ifremer

Method : Side effect was tested using Redundancy analysis (RDA) combined with permutation test

N= 91

Mean otolithe outline shapes formed with reverse Fourier transform of the outline

=> perfect shape overlap between right (dark grey dash line) and left (Grey solid line) otoliths

⇩

→ **No differences between left and right otolith shape**

→ **Single otolith shape for each fish can be used for this approach**

Size, sex, year, area effect?



Method : Tested using Redundancy analysis (RDA) combined with permutation tests

→ No significant effect of the total length (p=0.464), sex (p=0.121), sampling year (p=0.725)

→ Significant effect of sampling area **(p<0.05)**

Method : Linear Discriminant Analysis

Sampling area	South Africa	South Malagasy	Mozambique	La Réunion	Rodrigues	Sri Lanka	Thailand	%
South Africa	4	3	2	1	9	1	0	20
South Malagasy	5	19	4	20	9	13	1	27
Mozambique	3	2	5	11	9	4	0	15
La Réunion	5	17	16	41	14	13	1	38
Rodrigues	2	12	8	23	28	10	0	34
Sri Lanka	2	12	14	13	12	21	2	28
Thailand	0	2	1	0	1	0	0	0

Jackniffied correct classification matrix (correct classification : 30%)

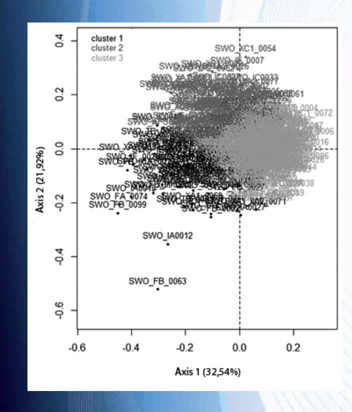
This analysis showed significant differences among groups of swordfish sampled in different areas of Indian Ocean

(Wilks'λ = 0.017; F=1.255; p=0.001).

Classification of all swordfish



Method : Hierarchical Clustering Analysis using Ward's method



Sampling area	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Total
South Africa	2	5	13	20
South Malagasy	11	20	40	71
Mozambique	3	13	18	34
La Reunion	20	23	64	107
Rodrigues	12	23	48	83
Sri Lanka	17	17	42	76
Thailand	1	1	2	4
Total	66	102	227	395

3 groups **BUT samplings areas mixed in all clusters**

Conclusions



1- Symmetry of right/left otoliths = good news!

2- No sex effects on otolith shape on adults (as shown for other species)

3- No year effects on otolith shape

4- No size effect on otolith shape

5- Sampling Area effect with significant difference among groups of swordfish but structure is not due to location, rather to individual variability and migration

6- in agreement with what was previously found using several genetic markers

=> No Spatial Structure of swordfish

in north/west Indian ocean

Annexe III





RAPPORT DE MISSION

Auteur : Kélig MAHE

Participants

Noms	**Organismes**
- Kélig MAHE	IFREMER Boulogne

Déroulement de mission

Dates : Du 02 au 06 12 2013 (05 jours)
Lieu : Ifremer, Délégation de La Réunion
Objectif(s) : (1) Installer une station d'imagerie
(2) Former le personnel à l'utilisation du logiciel TNPC et au scanner
(3) Discuter des futurs projets sur les otolithes et l'âge des poissons

Bilan de la mission

(1) Mise en place d'une station d'acquisition d'images (ordinateur relié à un scanner haute définition et à une loupe binoculaire à partir d'une caméra numérique à haute définition). Cette partie a été plus complexe que prévu, le matériel en place à la DOI n'étant pas optimum (ordinateur de travail pour le scanner...). Il sera souhaitable dans un avenir proche d'acquérir un nouvel ordinateur dédié à cet outil dont les caractéristiques machines correspondent aux besoins de l'outil.

(2) Installation du logiciel TNPC (Traitement Numérique des Pièces Calcifiées) et calibration du matériel.

(3) Formation du personnel Ifremer à l'utilisation de la station d'acquisition d'images (en particulier le scanner) et au logiciel TNPC (J. Bourjea, H . Evano, D. Roos, N. Nikolic et A. Nadeau). Des personnes extérieures ont également été formées : S. Jaquemet (ECOMAR) et A. Riou (IRD).

(4) Premiers tests et analyses des otolithes d'espadons. Les premiers résultats sont concluants, même s'il semble que les otolithes d'espadon sont plus fragiles que prévus et se casse très facilement lors de la manipulation. Il sera indispensable de tester la symétrie des otolithes pour pouvoir exploiter au maximum l'ensemble du jeu de données disponible pour le projet.

(5) Essaies d'analyses sur d'autres otolithes en particulier thons pour calibrer le scanner

Remerciements

LISTE DES PERSONNES/INSTITUTS A REMERCIER
Laurent Virapoullé (pêche avenir), Thierry Clot (TAAF), Graziella Jan (Cap Bourbon), François Leray (Sapmer), Antoine Riou (IRD), Sébastien Jaquemet (Université La Réunion)

Annexe IV

Ifremer

Système d'Informations Halieutiques

Action Paramètres biologiques

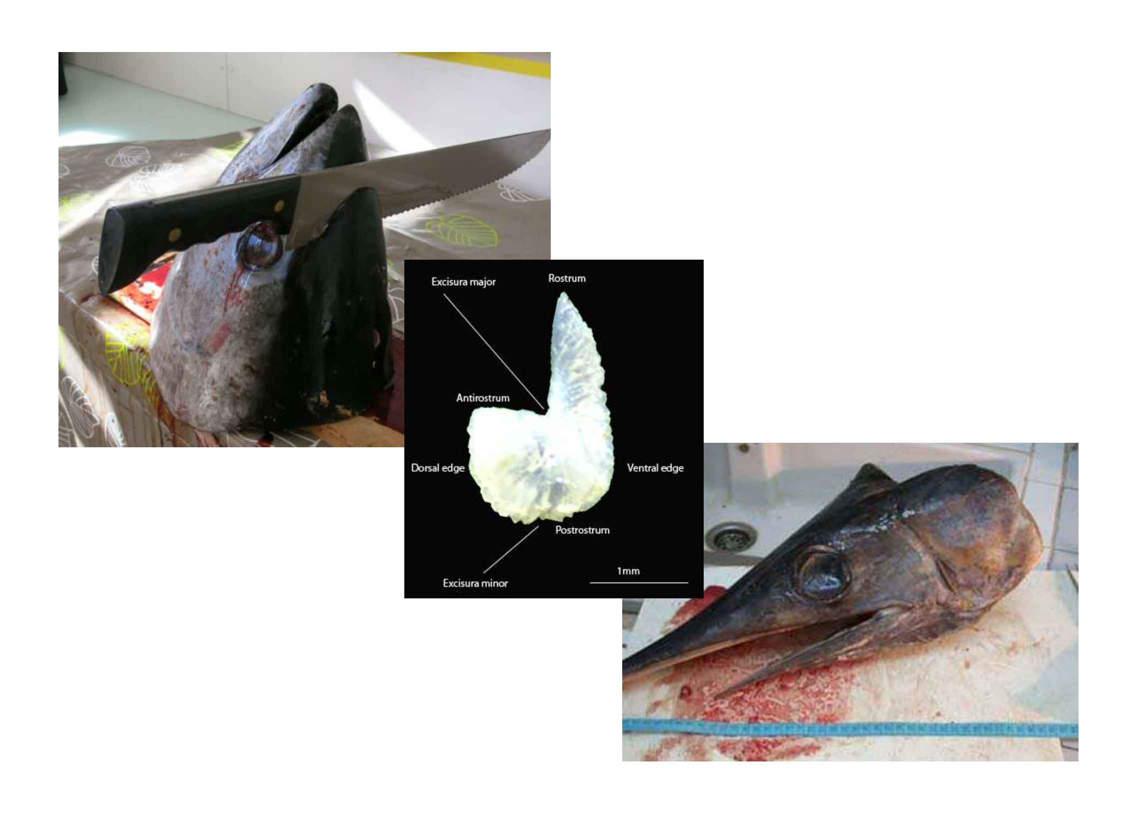
Hugues Evano[1]
Luisa Métral[2]
Blandine Brisset[2]
Jérôme Bourjea[1]
Natacha Nikolic[1]
Kélig Mahé[3]



Septembre 2014 – V.1

1 : Délégation Océan Indien- 9 Rue Jean Bertho - BP 60 - 97822 Le Port Cedex
2 : Laboratoire Ressources Halieutiques de Sète - Avenue Jean Monnet - CS 30171 - 34203 Sète Cedex
3 : Laboratoire Ressources Halieutiques de Boulogne- Centre Manche Mer du Nord - 150, Quai Gambetta - 62200 Boulogne-sur-Mer

Guide de prélèvements des otolithes chez les grands pélagiques



Guide de prélèvements des otolithes chez les grands pélagiques

La version informatique de ce document est disponible sur le site Web du SIH

(http://sih.ifremer.fr/)

Version	Date	Commentaires
1.0	Septembre 2014	Création



sommaire

1. Contexte

Ce guide présente les modes et règles de prélèvement puis de stockage des otolithes de grands pélagiques (thons et espadons). Ils ont été mis en place dans le cadre de projets de recherche comme « Germon » (http://wwz.ifremer.fr/lareunion/Les-projets/GERMON-en-cours), « IOSSS-Espadon » (http://wwz.ifremer.fr/lareunion/Les-projets/IOSSS-ESPADON) et «thon rouge (ICCAT-GBYP) » et dans le cadre de réseaux de surveillance coordonnés au niveau international, en particulier au sein du règlement européen sur la collecte des données halieutiques (DCMAP, Data Collection Multi Annual Programme).
Ce guide a pour but de standardiser les prélèvements d'otolithes effectués à l'Ifremer sur ces grands pélagiques. Il reprend et complète la synthèse française des procédures d'estimation d'âge (Mahé *et al*., 2009), le manuel d'utilisation du fichier : "Parametres biologiques v7.xls" (Mahé *et al*., 2007) et le guide de prélèvement des pièces calcifiées (Mahé *et al.*, 2013).

Les procédures décrites dans ce guide sont conformes aux référentiels de la base Harmonie de l'Ifremer.

Pour toutes remarques sur ce document, merci d'envoyer un mail à admsih@ifremer.fr en précisant dans l'objet " Guide de prélèvements des otolithes chez les grands pélagiques".

2. Matériel de prélèvement

Les prélèvements peuvent être effectués en mer ou à terre sur des poissons entiers ou seulement des têtes fraiches ou congelées (cas spécifique aux grands pélagiques).

1. Les otolithes étant dans la boite crânienne, il est nécessaire d'ouvrir celle-ci. Chez les grands pélagiques, la boite crânienne étant très grosse et très dure, il faut utiliser du matériel adapté, c'est à dire **un grand couteau à dents et une scie de boucher (ou équivalent comme une scie à métaux)**.
2. Pour le prélèvement des otolithes, une **pince type Brucelle** comme pour les autres espèces peut être utilisée car leur taille est équivalente à celle de beaucoup d'autres espèces.



Lorsque les otolithes sont prélevés, il est nécessaire qu'ils soient nettoyés lors du prélèvement afin de retirer le *mucus* et autres dépôts organiques sur la pièce. *Des otolithes mal nettoyés lors du prélèvement peuvent être inutilisables.*

Les otolithes peuvent être simplement essuyés dans du papier absorbant immédiatement après leur extraction.

3. Type de Coupe

La coupe doit être réalisée avec précaution pour éviter de sectionner l’oreille interne et les otolithes.

3.1. Coupe frontale

3.1.1. Exemple chez le thon rouge (*Thunnus thynnus*)

La tête de thon est déposée sur le rebord de la table. L’entaille pour la coupe frontale se fait au "couteau à thon". Puis la coupe se fait à la scie à métaux selon les photos de la figure 1.



Figure 1 : Photos des étapes lors de la coupe frontale d’une tête de thon rouge (*Thunnus thynnus*).

3.2. Coupe transversale

3.2.1. Exemple chez le thon germon (*Thunnus alalunga*)

La première coupe (Fig. 2 ; coupe n°1), qui sépare les 2 maxillaires, permettra d’effectuer la seconde coupe (Fig. 2 ; coupe n°2) plus facilement. Cette coupe n°2 est transversale et passe sur l’arrière de l’œil. Il faut ensuite effectuer une coupe longitudinale de la partie supérieure (Fig. 2 ; coupe n°3).
Ne pas hésiter à effectuer plusieurs coupes pour éviter d’abîmer les otolithes (Fig. 2).

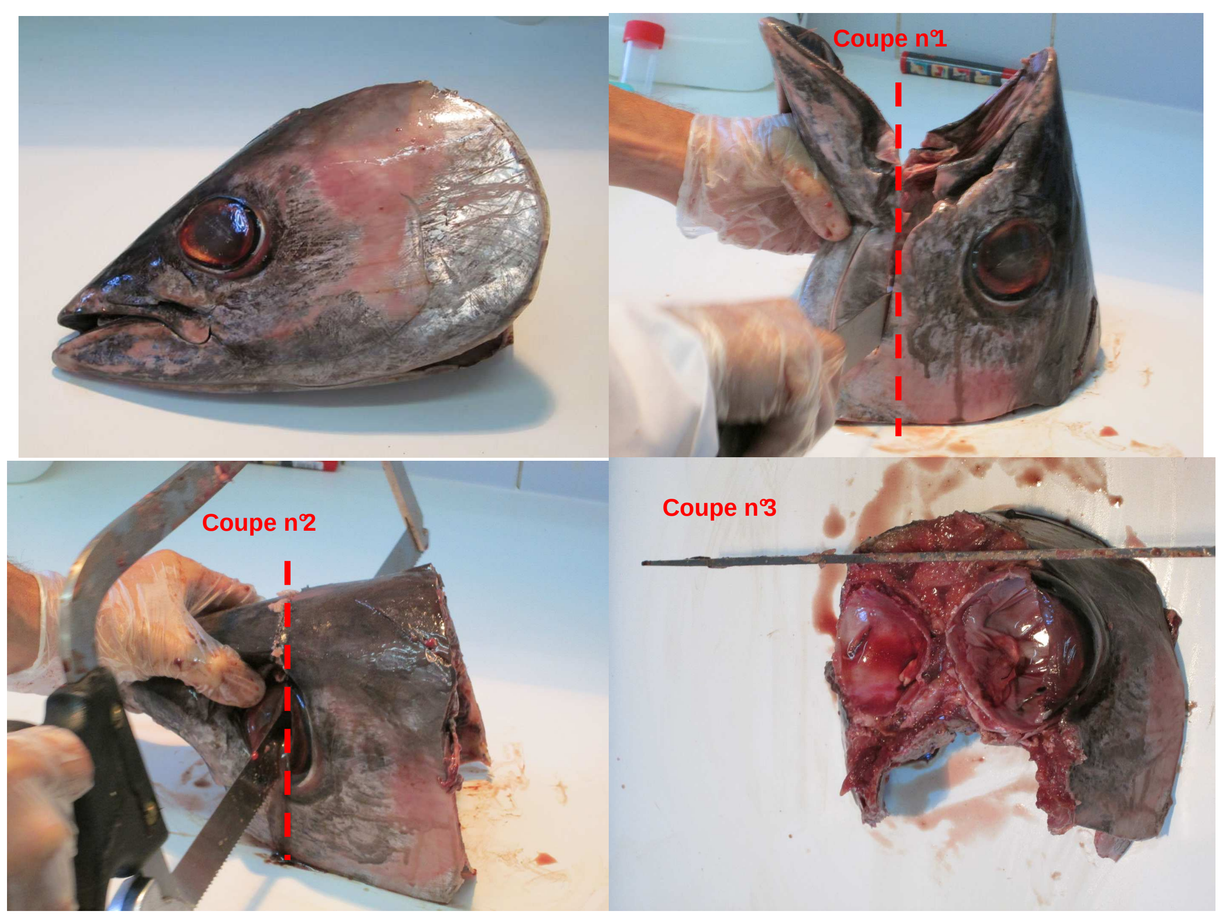


Figure 2 : Photos des étapes lors de la découpe d'une tête de thon germon (*Thunnus alalunga*).

3.2.2. Exemple chez l'espadon (*Xiphias gladius*)

Pour ne pas couper les otolithes mais réaliser une coupe proche de ceux-ci, la distance D2 (distance entre l'arrière de l'oeil et la coupe) doit être supérieure à D1 (diamètre de l'oeil) (Fig. 3).

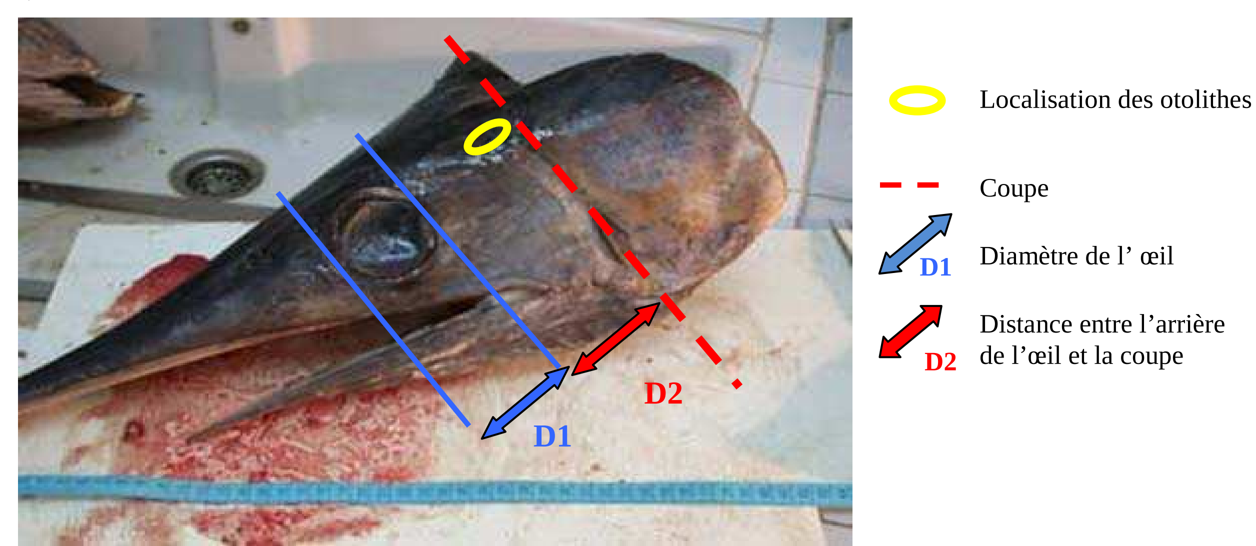


Figure 3 : Schéma explicatif des différentes coupes à effectuer de la tête d'espadon (*Xiphias gladius*).

L'objectif est de couper un morceau de tête ayant un volume le plus petit possible (contenant les otolithes) pour faciliter le stockage sur un bateau par exemple, à l'usine ou chez un mareyeur en attendant l'extraction des otolithes au laboratoire.

On procède à plusieurs étapes de coupes successives (Fig. 4) :

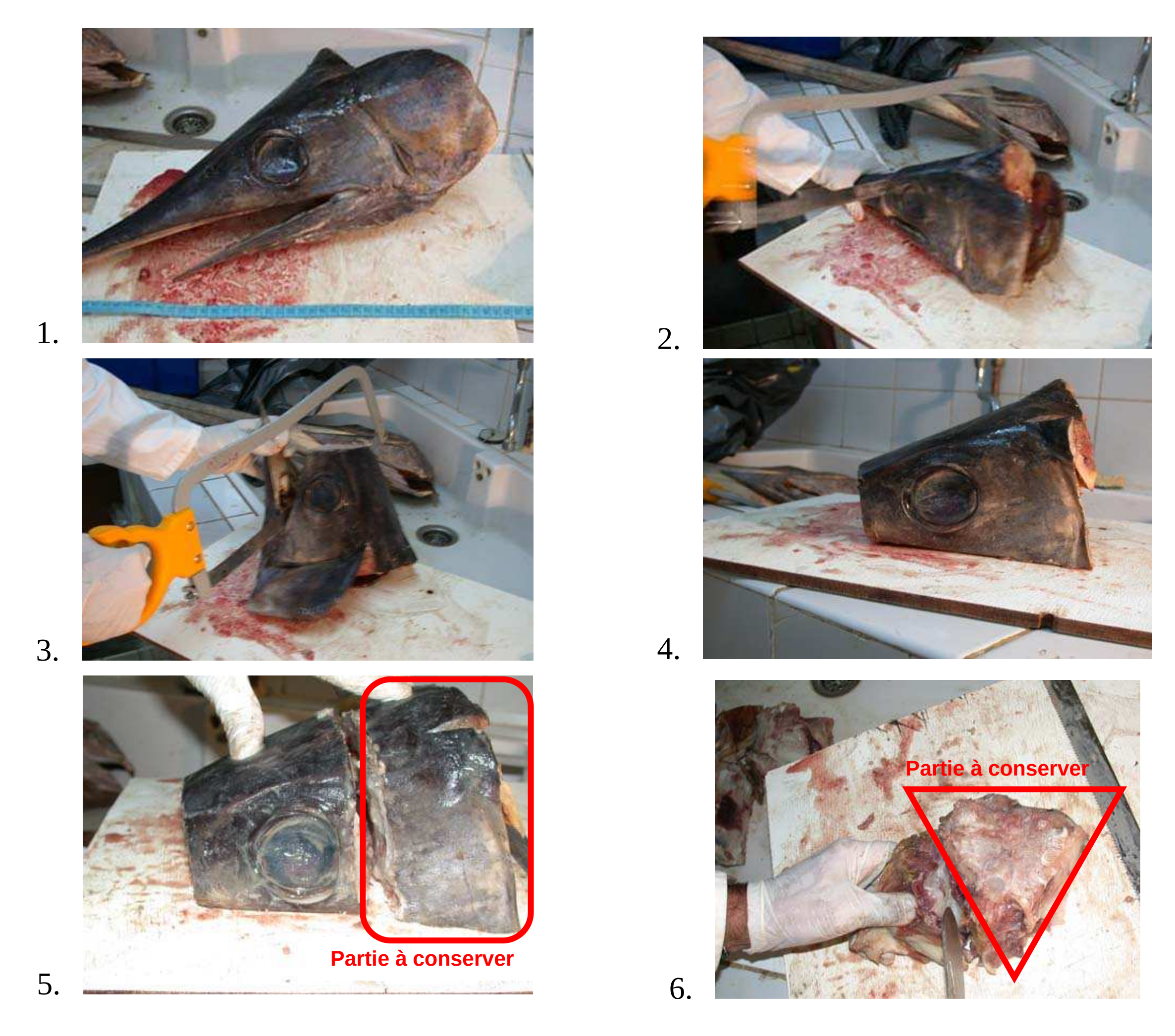
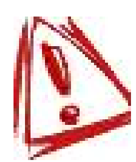


Figure 4 : Etapes de découpes successives de la tête d'espadon (*Xiphias gladius*) pour diminuer au maximum le volume de l'échantillon à conserver.



Ce morceau de tête, contenant les otolithes, doit être stocker avec un numéro d'identifiant.

4. Extraction des otolithes

4.1. Après coupe frontale

4.1.1. Exemple chez le thon rouge (*Thunnus thynnus*)

Après avoir ouvert le crâne et déplacé l'encéphale, les deux plus gros otolithes (les *sagittae*) se situent dans les deux logettes telles que l'on peut les voir sur les photos de la figure 5. Les otolithes (Fig. 6) sont prélevés à l'aide d'une pince en acier inoxydable puis nettoyés, rincés et séchés avant d'être stockés.

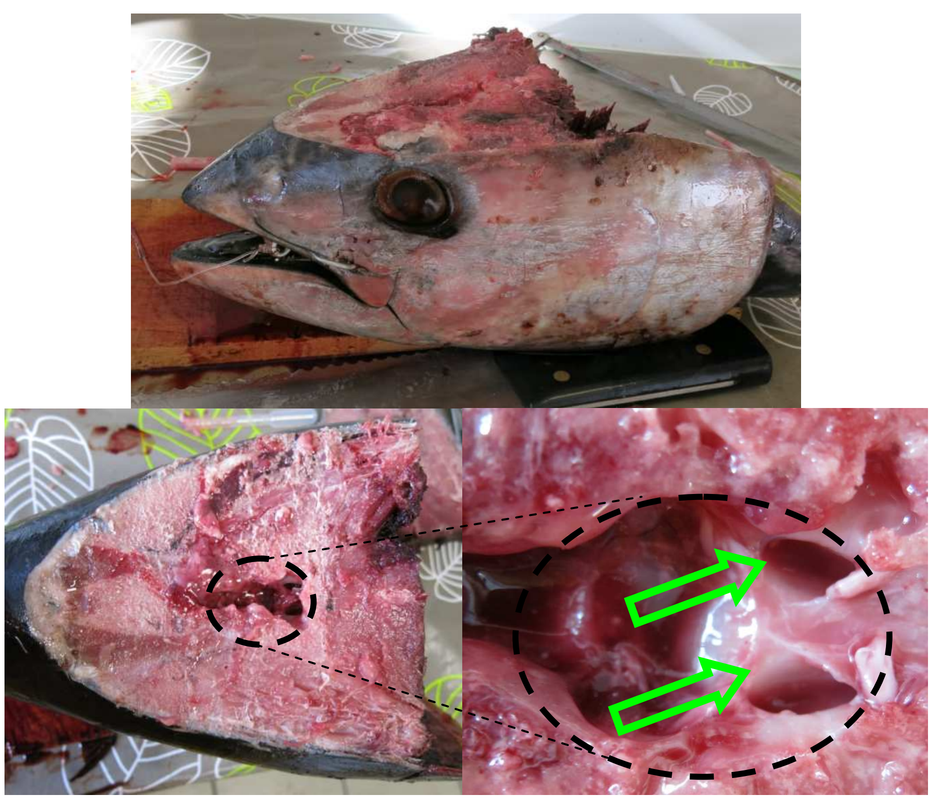


Figure 5 : Photos permettant de situer les otolithes de thon rouge (*Thunnus thynnus*).



Figure 6 : Otolithes de thon rouge (*Thunnus thynnus*).

4.2. Après coupe transversale

4.2.1. Exemple chez le thon germon (*Thunnus alalunga*)

Les otolithes se situent dans les deux logettes telles que l'on peut les voir sur les photos de la figure 7. Les otolithes (Fig. 8) sont prélevés à l'aide d'une pince en acier inoxydable puis nettoyés, rincés et séchés avant d'être stockés.

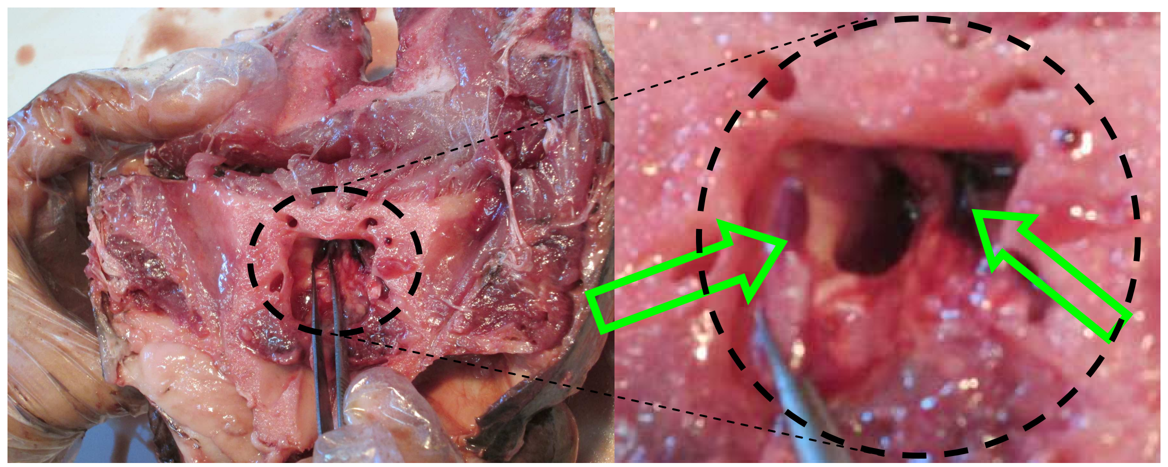


Figure 7 : Photos permettant de situer les otolithes de thon rouge (*Thunnus alalunga*).



Figure 8 : Otolithes de thon germon (*Thunnus alalunga*).

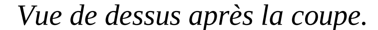
4.2.2. Exemple chez l'espadon (*Xiphias gladius*)

Pour pouvoir prélever les otolithes, il est nécessaire d'extraire préalablement les canaux semi-circulaires contenant les otolithes.

Il faut effectuer une coupe longitudinale de la partie supérieure de la partie conservée. Ne pas hésiter à effectuer plusieurs coupes pour éviter d'abîmer les canaux semi-circulaires (Fig. 9).

Morceau de tête avant la coupe





Vue de dessus après la coupe.



Figure 9 : Coupe longitudinale de la partie supérieure de la tête d'espadon (*Xiphias gladius*) pour atteindre les otolithes.

Enlever délicatement la graisse avec une spatule. A l'aide d'une pince de prélèvement, il faut récupérer délicatement les canaux semi-circulaires contenant les otolithes de chaque côté de la cavité centrale (Fig. 10).



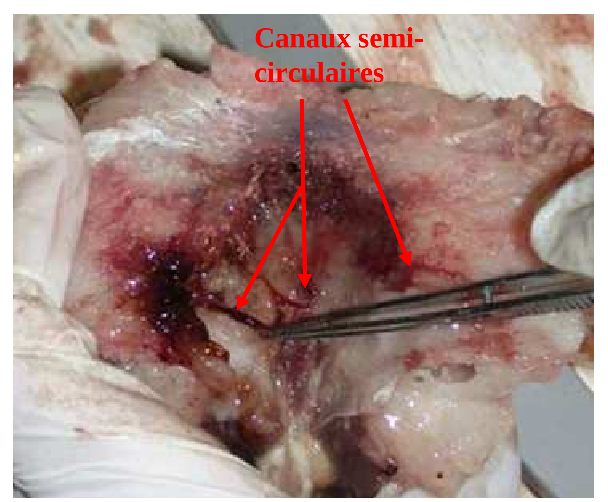
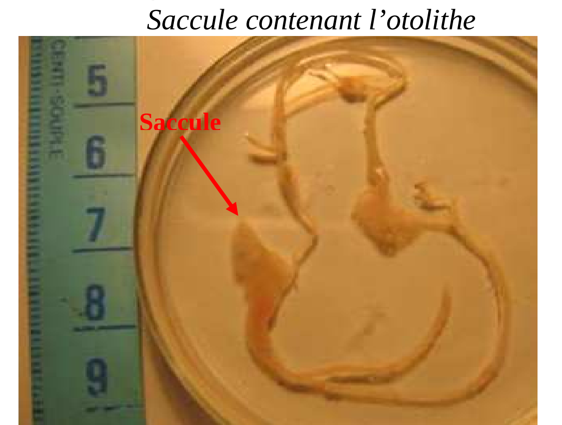


Figure 10 : Position des canaux semi-circulaires dans la tête de l'espadon.

Après avoir prélever les canaux semi-circulaires, l'extraction des otolithes s'effectue sous une loupe binoculaire (Fig. 11).

Saccule contenant l'otolithe



Coupe du saccule pour libérer l'otolithe

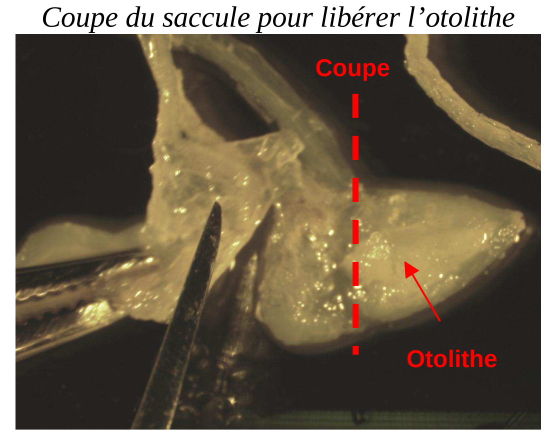


Figure 11 : Canaux semi-circulaires et saccules d'espadon (*Xiphias gladius*).



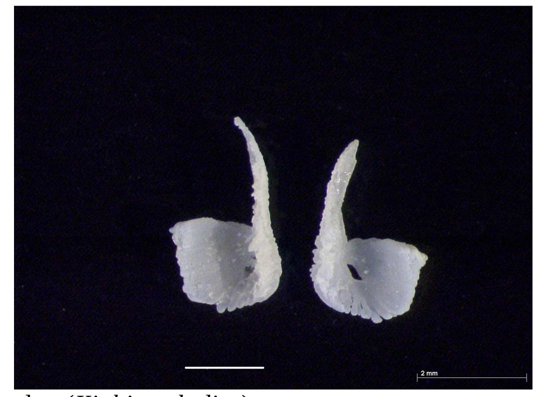


Figure 12 : Otolithes d'espadon (*Xiphias gladius*).

5. Conservation des otolithes

La meilleure méthode pour conserver les otolithes est de les stocker complètement à sec. Après nettoyage, ils sont séchés par simple exposition à l'air à température ambiante ou dans une étuve à basse température (Panfili *et al.*, 2002).



Il y a 2 modes de stockage utilisés à l'Ifremer (Fig. 13):

- des enveloppes papiers
- des microtubes de type Eppendorf ®

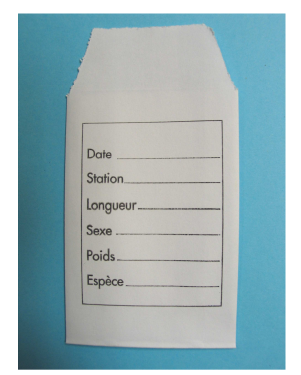




Figure 13 : Pochettes en papier et micro-tubes utilisés par le stockage des pièces calcifiées.



Les eppendorfs sont nécessaire lorsque les otolithes sont très petits et/ou très fragiles comme chez les l'espadon par exemple.

Ces 2 modes de stockage présentent des avantages et des inconvénients. Les pochettes en papier, recommandées par Williams & Bedford (1974), sont très pratiques lors des échantillonnages et lors du rangement pour conserver des pièces calcifiées assez volumineuses mais fragiles. Ainsi, ce système est le plus utilisé à l'Ifremer.



S'assurer que la pièce calcifiée soit au fond de la pochette.

Ne jamais utiliser d'élastiques qui peuvent casser les otolithes

Ne jamais agrafer les enveloppes papier

Le référence de l'échantillon et toutes les informations liées (date, longueur, sexe, stade de maturité sexuelle, espèce, numéro de trait…) sont reportées sur la pochette avant l'introduction de la pièce calcifiée.

L'usage de micro tubes nécessite d'insérer ou de coller une étiquette informative. Les micro-tubes ont l'avantage d'être suffisamment rigides pour protéger efficacement les otolithes des cassures consécutives à la manipulation lors d'envoi ou de rangement.

Les zones de stockage fraîches et obscures sont probablement les meilleures et les otolithes séchés peuvent ainsi être conservés indéfiniment (Brothers, 1987 *In* Panfili *et al.*, 2002).

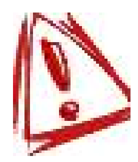
Il est à noter qu'une conservation dans un milieu aqueux comme l'alcool peut être utilisé. Ceci peut être particulièrement utile pour les otolithes petits et fragiles. La concentration de l'alcool doit être de 95 % au minimum (Panfili *et al.*, 2002).

6. Précautions à prendre pour des analyses microchimiques

- Rincer les saccules avec de l'eau milliQ,
- Extraire les otolithes à l'aide des pinces en céramique et les placer dans un récipient « neutre chimiquement » en téflon ou en céramique,
- Les nettoyer avec un ustensile adapté à la taille de l'otolithe,
- Une fois sec :
  - placer les otolithes dans 3 gouttes de peroxyde d'hydrogène (ultra pure) pendant 5 minutes.
  - placer les otolithes dans un bain d'acide nitrique à 0.1% pendant 5 minutes (Arrizabalaga *et al.*, 2012)
- Les rincer dans 3 bains successifs d'eau milliQ,
- Les stocker dans un tube en plastique ouvert sous une hotte à flux laminaire pendant 24 heures,
- Fermer le tube et le conserver dans un endroit sec à l'abri de la lumière et de la chaleur.

7. Paramètres biologiques associés

Lorsqu'un poisson est échantillonné pour estimer son âge, il est nécessaire de noter les paramètres biologiques (taille et poids individuels, sexe, stade de maturité…) et d'échantillonnage (date, lieu, …).



Toutes ces données et celles liées à l'âge sont stockées dans un fichier standardisé "parametres biologiques v7.xls" utilisable quel que soit le lieu de prélèvement (en mer ou à terre) et qui comporte les champs suivants :

- Navire
- Engin
- Code_Espece
- Description
- Increment
- Unite_Taille
- Unite_Poids
- Presentation
- Maturite_Echelle
- Type_PC
- Preparation_PC
- Poids_PC
- Cat
- Date
- Numero_Trait
- Lieu
- Zone
- Taille
- Poids
- Sexe

- Maturite
- Age
- Reference_Prelevement
- Reference_PC
- Observations

Les fichiers générés par les séances de prélèvements sont gérés dans une base de données qui offre toutes les passerelles vers la base de données halieutiques Harmonie.



Pour tout envoi de pièces calcifiées, il faut nécessairement compléter un fichier "parametres biologiques v5.xls" selon le Manuel d'utilisation du fichier : Parametres biologiques v5.xls (Mahé *et al.*, 2007) et envoyer par mail.

Bibliographie

Badts, V. & Bertrand, J. 2012. Guide de la mensuration des espèces en halieutique, poissons, mollusques, crustacés, reptiles marins, mammifères marins. http://archimer.ifremer.fr/doc/00001/6237/

Brothers, E.B., 1987. Methodological approaches to the examination of otoliths in ageing studies. *In* : Summerfelt, R.C. & Hall, G.E. (Eds.) The age and growth of fish. *Ames, Iowa, USA: The Iowa State University Press.* 319-330

Mahé, K., Bellail, R., Dufour, J.L., Boiron-Leroy, A., Diméet, J., Duhamel, E., Elleboode, R., Félix, J., Grellier, P., Huet, J., Labastie, J., Le Roy, D., Lizaud, O., Manten, M.L., Martin, S., Metral, L., Nédelec, D., Vérin, Y., Badts, V., 2009, Synthèse française des procédures d'estimation d'âge / French summary of age estimation procedures. http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/7294/

Mahé, K., Vigneau, J. & Badts, V., 2007. Saisie des paramètres biologiques. Manuel d'utilisation du fichier : Parametres biologiques v5.xls, 27p.

Mahé, K., Dufour, J.-L., Elleboode, R., Felix, J., Sévin, K. & Badts, V., 2013. Guide de prélèvements des pièces calcifiées. http://archimer.ifremer.fr/doc/00116/22764/

Panfili, J., Pontual, H. (de)., Troadec, H. & Wright, P.J. (Eds.), 2002. Manuel de sclérochronologie des poissons. Coédition *Ifremer-IRD*, 464p.

Simkiss, K., 1974. Calcium metabolism of fish in relation to ageing. *In* : Bagenal, T.B. (Eds.) Ageing of Fish. *Proceedings of an International Sympopsium. Old Working Survey England Unwin Brothers*. 1-12.

Williams, T. & Bedford, B.C., 1974. The use of otoliths for age determination. *In* : Bagenal, T.B. (Eds.) Ageing of Fish. *Proceedings of an International Sympopsium. Old Working Survey England Unwin Brothers*. 114-123.

Arrizabalaga, H., Goñi, N., Fraile, I., Laconcha, U., Puncher, G., Rodriguez Marín, E. & Medina, A., 2012. Sampling protocols for the GBYP biological sampling. GBYP report. ICCAT Madrid. 17p.

